

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
25. März 2004 (25.03.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2004/024931 A2

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12P 13/04,  
13/12

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/009451

(22) Internationales Anmeldedatum:  
26. August 2003 (26.08.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
102 39 308.7 27. August 2002 (27.08.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE];  
., 67056 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KRÖGER, Burkhard  
[DE/DE]; Im Waldhof 1, 67117 Limburgerhof (DE).  
ZELDER, Oskar [DE/DE]; Franz-Stützel-Str. 8, 67346  
Speyer (DE). KLOPPROGGE, Corinna [DE/DE];  
Rastatter Str. 10, 68239 Mannheim (DE). SCHRÖDER,  
Hartwig [DE/DE]; Benzstr. 4, 69226 Nussloch (DE).  
HÄFNER, Stefan [DE/DE]; Luitpoldstr. 11, 67063  
Ludwigshafen (DE).

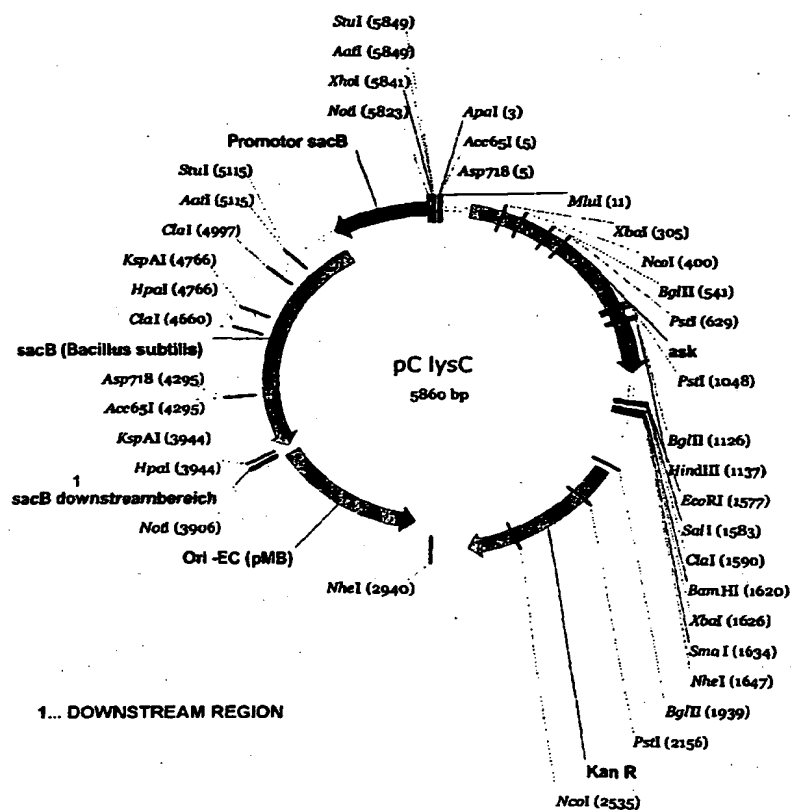
(74) Anwalt: KINZEBACH, Werner; Reitstötter, Kinzebach  
& Partner (GbR), Sternwartstr. 4, 81679 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,  
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR THE PRODUCTION BY FERMENTATION OF SULPHUR-CONTAINING FINE CHEMICALS  
(METF)

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR FERMENTATIVEN HERSTELLUNG SCHWEFELHALTIGER FEINCHEMIKALIEN  
(METF)



(57) Abstract: The invention relates to methods for the production by fermentation of sulphur-containing fine chemicals, in particular L-methionine, using bacteria in which a nucleic acid sequence coding for a methionine synthase gene (metF) is expressed.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für ein Methionin-Synthase (metF)-Gen kodierende Nukleotidsequenz exprimiert wird.



GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— *ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts*

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

# Verfahren zur fermentativen Herstellung schwefelhaltiger Feinchemikalien (METF)

## Beschreibung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für ein Methylentetrahydrofolat Reduktase (metF)-Gen kodierende Nukleotidsequenz exprimiert wird.

## Stand der Technik

Schwefelhaltige Feinchemikalien, wie zum Beispiel Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-Methionin, Glutathion, Cystein, Biotin, Thiamin, Liponsäure werden über natürliche Stoffwechselprozesse in Zellen hergestellt und werden in vielen Industriezweigen verwendet, einschließlich der Nahrungsmittel-, Futtermittel-, Kosmetik- und pharmazeutischen Industrie. Diese Substanzen, die zusammen als "schwefelhaltige Feinchemikalien" bezeichnet werden, umfassen organische Säuren, sowohl proteinogene als auch nicht-proteinogene Aminosäuren, Vitamine und Cofaktoren. Ihre Produktion erfolgt am zweckmäßigsten im Großmaßstab mittels Anzucht von Bakterien, die entwickelt wurden, um große Mengen der jeweils gewünschten Substanz zu produzieren und sezernieren. Für diesen Zweck besonders geeignete Organismen sind coryneforme Bakterien, gram-positive nicht-pathogene Bakterien.

Es ist bekannt, dass Aminosäuren durch Fermentation von Stämmen coryneformer Bakterien, insbesondere *Corynebacterium glutamicum*, hergestellt werden. Wegen der großen Bedeutung wird ständig an der Verbesserung der Herstellverfahren gearbeitet. Verfahrensverbesserungen können fermentationstechnische Maßnahmen, wie zum Beispiel Rührung und Versorgung mit Sauerstoff, oder die Zusammensetzung der Nährmedien, wie zum Beispiel die Zuckerkonzentration während der Fermentation, oder die Aufarbeitung zum Produkt, beispielsweise durch Ionenaustauschchromatographie, oder die intrinsischen Leistungseigenschaften des Mikroorganismus selbst betreffen.

Über Stammselektion sind eine Reihe von Mutantenstämmen entwickelt worden, die ein Sortiment wünschenswerter Verbindungen aus der Reihe der schwefelhaltigen Feinchemikalien produzieren. Zur Verbesserung der Leistungseigenschaften dieser Mikroorganismen hinsichtlich der Produktion eines bestimmten Moleküls werden Methoden der Mutagenese, Selektion und Mutantenauswahl angewendet. Dies ist jedoch ein zeitaufwendiges und schwieriges Verfahren. Auf diese Weise erhält man z.B. Stämme, die resistent gegen Antimetabolite, wie z. B. die Methionin-Analoga  $\alpha$ -Methyl-Methionin, Ethionin, Norleucin, N-Acetylnorleucin, S-Trifluoromethylhomocystein, 2-Amino-5-heptenoisäure, Seleno-Methionin, Methioninsulfoximin,

Methoxin, 1-Aminocyclopentan-Carboxylsäure oder auxotroph für regulatorisch bedeutsame Metabolite sind und schwefelhaltige Feinchemikalien, wie z. B. L-Methionin, produzieren.

Seit einigen Jahren werden ebenfalls Methoden der rekombinanten DNA-Technik zur Stammverbesserung von L-Aminosäure produzierender Stämme von *Corynebacterium* eingesetzt, indem man einzelne Aminosäure-Biosynthesegene amplifiziert und die Auswirkung auf die Aminosäure-Produktion untersucht.

#### Kurze Beschreibung der Erfindung

Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, ein neues Verfahren zur verbesserten fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, bereitzustellen.

Gelöst wird obige Aufgabe durch Bereitstellung eines Verfahrens zur fermentativen Herstellung einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, umfassend die Expression einer heterologen Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, in einem coryneformen Bakterium.

Ein erster Gegenstand der Erfindung ist Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:

- a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird, welche für ein Protein mit Methylentetrahydrofolat Reduktase (metF)-Aktivität kodiert;
- b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den Zellen der Bakterien, und
- c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie, welche vorzugsweise L-Methionin umfasst.

Vorzugsweise besitzt obige heterologe metF-kodierende Nukleotidsequenz zur metF-kodierenden Sequenz aus *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 eine Sequenzhomologie von weniger als 100%, wie z.B. mehr als 70%, wie 75, 80, 85, 90 oder 95 %, oder weniger als 70%, wie z.B. bis zu 60, 50, 40, 30, 20 oder 10 %. Die metF-kodierende Sequenz ist vorzugsweise aus einem der folgenden Organismen von Liste I abgeleitet:

#### Liste I

Liste I

Organismus	Stammsammlung
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	ATCC 14779
<i>Streptomyces lividans</i>	ATCC 19844
<i>Streptomyces coelicolor</i>	ATCC 10147
<i>Aquifex aeolicus</i>	DSM 6858
<i>Burkholderia cepacia</i>	ATCC 25416
<i>Nitrosomonas europaea</i>	ATCC 19718
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 17933
<i>Xylella fastidiosa</i>	ATCC 35881
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	ATCC 24969
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 10751
<i>Erwinia carotovora</i>	ATCC 15713
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700721
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 12839
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 15277
<i>Escherichia coli</i> K12	ATCC 55151
<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 39315
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 51907
<i>Caulobacter crescentus</i>	ATCC 19089
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	ATCC 33384
<i>Neisseria meningitis</i>	ATCC 6253
<i>Rhodobacter capsulatus</i>	ATCC 11166
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560
<i>Lactococcus lactis</i>	ATCC 7962
<i>Prochlorococcus marinus</i>	PCC 7118
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	ATCC 12980

- 5 ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA  
PCC: Pasteur Culture Collection of Cyanobacteria. Paris Frankreich  
DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen

10 Die erfindungsgemäß eingesetzte metF-kodierende Sequenz umfasst vorzugsweise eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, umfasst.

15 Die erfindungsgemäß eingesetzte metF-kodierende Sequenz kodiert außerdem vorzugsweise für ein Protein mit metF-Aktivität, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52

und 54 oder eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität steht.

- Die kodierende metF-Sequenz ist vorzugsweise eine in coryneformen Bakterien replizierbare  
5 oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt, indem man

- 10 a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metF-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder  
b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metF-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde.

- 15 Es ist weiterhin bevorzugt, die kodierende metF-Sequenz für die Fermentation zu überexprimieren.

- Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie  
20 verstärkt ist; und / oder  
in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet sind, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.

- Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie  
25 durch Stoffwechselmetabolite in seiner Aktivität nicht in unerwünschter Weise beeinflusst wird.

- Gemäß einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden deshalb coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt  
30 unter

- a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen lysC,  
b) dem für eine Aspartat-Semialdehyd-Dehydrogenase kodierenden Gen asd  
c) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen gap,  
35 d) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen pgk,  
e) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen pyc,  
f) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen tpi,  
g) dem für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierenden Gen metA,

- h) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen metB,  
i) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen metC,  
j) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen glyA,  
k) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierenden Gen metY,  
5 l) dem für die Methionin Synthase kodierenden Gen methI,  
m) dem für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierenden Gen serC  
n) dem für die Phosphoserin-Phosphatase kodierenden Gen serB,  
o) dem für die Serine Acetyl-Transferase kodierenden Gen cysE,  
p) dem für die Homoserin-Dehydrogenase kodierenden Gen hom,  
10 überexprimiert ist.

Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene ausgewählt unter Genen der oben genannten Gruppe a) bis p) mutiert ist, so dass die korrespondierenden Protei-  
15 ne, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden und dass insbesondere die erfindungsgemäße Produktion der Feinchemikalie nicht beeinträchtigt wird.

20 Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- q) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen thrB,  
r) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen ilvA,  
s) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen thrC  
t) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen ddh  
25 u) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen pck,  
v) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen pgi,  
w) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen poxB,  
x) dem für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierenden Gen dapA,  
y) dem für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierenden Gen dapB; oder  
30 z) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierenden Gen lysA

abschwächt ist, insbesondere durch Verringerung der Expressionsrate des korrespondierenden Gens.

35 Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene der obigen Gruppen q) bis z) mutiert ist, so dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise oder vollständig verringert wird.

Vorzugsweise werden in dem erfindungsgemäßen Verfahren Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* eingesetzt.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin-

- 5   haltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst
- a)   Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganis-
  - mus in einem Fermentationsmedium;
  - b)   Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
  - c)   Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge
  - 10   von 0 bis 100 Gew.-%; und
  - d)   Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das
  - Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.

- 15   Gegenstand der Erfindung sind ebenfalls die erstmalig aus obigen Mikroorganismen isolierten
- kodierenden metF-Sequenzen, die davon kodierten metF-Enzyme sowie die funktionalen Homo-
- logen dieser Polynukleotide bzw. Proteine.

#### Detaillierte Beschreibung der Erfindung

- 20   a)   Allgemeine Begriffe

Als Proteine mit der Aktivität der Methylentetrahydrofolat-Reduktase werden solche Proteine

beschrieben, die in der Lage sind 5,10-Methylenetetrahydrofolat ( $\text{CH}_2\text{-H(4)Folat}$ ) unter Oxi-

25   dation des Cofaktors NADH oder NADPH zu 5-Methyltetrahydrofolat ( $\text{CH}_3\text{-H(4)Folat}$ ) zu re-

     duzieren.

Dem Fachmann sind weitere Details des metF Proteins bekannt: (Matthews RG. Sheppard C.

Goulding C. European Journal of Pediatrics. 157 Suppl 2:S54-9, 1998, Trimmer EE. Ballou DP.

30   Matthews RG. Biochemistry. 40(21):6205-15, 2001). Der Fachmann kann die enzymatische Akti-

     vität von metF durch Enzymtests nachweisen, Vorschriften dafür können sein: Matthews, R.G.,

     Methylenetetrahydrofolate reductase from pig liver. Methods in Enzymology. 122:372-81, 1986.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfasst der Begriff „schwefelhaltige Feinchemikalie“

jegliche chemische Verbindung, die wenigstens ein Schwefelatom kovalent gebunden enthält

35   und durch ein erfindungsgemäßes Fermentationsverfahrens zugänglich ist. Nichtlimitierende

     Beispiele dafür sind Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-Methionin, insbesondere Methionin,

     und S-Adenosyl-Methionin.



Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfassen die Begriffe „L-Methionin“, „Methionin“, Homocystein und S-Adenosylmethionin auch die korrespondierenden Salze, wie z. B. Methionin-Hydrochlorid oder Methionin-Sulfat.

- 5 "Polynukleotide" bezeichnet im allgemeinen Polyribonukleotide (RNA) und Polydeoxyribonukleotide (DNA), wobei es sich um nicht modifizierte RNA oder DNA oder modifizierte RNA oder DNA handeln kann.

- 10 Unter "Polypeptiden" versteht man erfindungsgemäß Peptide oder Proteine, die zwei oder mehr über Peptidbindungen verbundene Aminosäuren enthalten.

- Der Begriff „Stoffwechselmetabolit“ bezeichnet chemische Verbindungen, die im Stoffwechsel von Organismen als Zwischen- oder auch Endprodukte vorkommen und die neben ihrer Eigenschaft als chemische Bausteine auch modulierende Wirkung auf Enzyme und ihre katalytische Aktivität haben können. Dabei ist aus der Literatur bekannt, dass solche Stoffwechselmetabolite sowohl hemmend als auch stimulierend auf die Aktivität von Enzymen wirken können (Biochemistry, Stryer, Lubert, 1995 W. H. Freeman & Company, New York, New York.). In der Literatur ist auch beschrieben, dass es möglich ist durch Maßnahmen wie Mutation der genomischen DNA durch UV-Strahlung, ionisierender Strahlung oder mutagene Substanzen und nachfolgender Selektion auf bestimmte Phänotypen in Organismen solche Enzyme zu produzieren, in denen die Beeinflussung durch Stoffwechselmetabolite verändert wurde (Sahm H. Eggeling L. de Graaf AA. Biological Chemistry 381(9-10):899-910, 2000; Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 64:145-63, 1993-94). Diese veränderten Eigenschaften können auch durch gezielte Maßnahmen erreicht werden. Dabei ist dem Fachmann bekannt, dass in Genen für Enzyme bestimmte Nukleotide der für das Protein kodierenden DNA gezielt verändert werden können, so dass das aus der exprimierten DNA-Sequenz resultierende Protein bestimmte neue Eigenschaften aufweist, so zum Beispiel, dass die modulierende Wirkung von Stoffwechselmetaboliten gegenüber dem nicht veränderten Protein verändert ist.

- 30 Enzyme können derart in ihrer Aktivität beeinflusst werden, dass es zu einer Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit, oder zu einer Veränderung der Affinität gegenüber dem Substrat oder zu einer Änderung der Reaktionsgeschwindigkeiten kommt.

- 35 Die Begriffe "exprimieren" bzw. "Verstärkung" oder „Überexpression“ beschreiben im Kontext der Erfindung die Produktion bzw. Erhöhung der intrazellulären Aktivität eines oder mehrerer Enzyme in einem Mikroorganismus, die durch die entsprechende DNA kodiert werden. Dazu kann man beispielsweise ein Gen in einen Organismus einbringen, ein vorhandenes Gen durch ein anderes Gen ersetzen, die Kopienzahl des Gens bzw. der Gene erhöhen, einen starken Promo-

tor verwenden oder ein Gen verwenden, das für ein entsprechendes Enzym mit einer hohen Aktivität kodiert und man kann gegebenenfalls diese Maßnahmen kombinieren.

b) Erfindungsgemäße metF-Proteine

5

Erfindungsgemäß mit umfasst sind ebenfalls „funktionale Äquivalente“ der konkret offenbarten metF-Enzyme aus Organismen obiger Liste I.

10

„Funktionale Äquivalente“ oder Analoga der konkret offenbarten Polypeptide sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung davon verschiedene Polypeptide, welche weiterhin die gewünschte biologische Aktivität, wie z.B. Substratspezifität, besitzen.

15

Unter "funktionalen Äquivalenten" versteht man erfindungsgemäß insbesondere Mutanten, welche in wenigstens einer der oben genannten Sequenzpositionen eine andere als die konkret genannte Aminosäure aufweisen aber trotzdem eine der oben genannten biologische Aktivitäten besitzen. "Funktionale Äquivalente" umfassen somit die durch eine oder mehrere Aminosäure-Additionen, -Substitutionen, -Deletionen und/oder -Inversionen erhältlichen Mutanten, wobei die genannten Veränderungen in jeglicher Sequenzposition auftreten können, solange sie zu einer Mutante mit dem erfindungsgemäßen Eigenschaftsprofil führen. Funktionale Äquivalenz ist insbesondere auch dann gegeben, wenn die Reaktivitätsmuster zwischen Mutante und unverändertem Polypeptid qualitativ übereinstimmen, d.h. beispielsweise gleiche Substrate mit unterschiedlicher Geschwindigkeit umgesetzt werden.

20

25

"Funktionale Äquivalente" umfassen natürlich auch Polypeptide welche aus anderen Organismen zugänglich sind, sowie natürlich vorkommende Varianten. Beispielsweise lassen sich durch Sequenzvergleich Bereiche homologer Sequenzregionen festlegen und in Anlehnung an die konkreten Vorgaben der Erfindung äquivalente Enzyme ermitteln.

30

„Funktionale Äquivalente“ umfassen ebenfalls Fragmente, vorzugsweise einzelne Domänen oder Sequenzmotive, der erfindungsgemäßen Polypeptide, welche z.B. die gewünschte biologische Funktion aufweisen.

35

„Funktionale Äquivalente“ sind außerdem Fusionsproteine, welche ein der oben genannten Polypeptidsequenzen oder davon abgeleitete funktionale Äquivalente und wenigstens eine weitere, davon funktionell verschiedene, heterologe Sequenz in funktioneller N- oder C-terminaler Verknüpfung (d.h. ohne gegenseitigen wesentliche funktionelle Beeinträchtigung der Fusionsproteinteile) aufweisen. Nichtlimitierende Beispiele für derartige heterologe Sequenzen sind z.B. Sig-

nalpeptide, Enzyme, Immunoglobuline, Oberflächenantigene, Rezeptoren oder Rezeptorliganden.

- Erfindungsgemäß mit umfasste „funktionale Äquivalente“ sind Homologe zu den konkret offen-
- 5 barten Proteinen. Diese besitzen wenigstens 30%, oder etwa 40%, 50 %, vorzugsweise wenigstens etwa 60 %, 65%, 70%, oder 75% ins besondere wenigsten 85 %, wie z.B. 90%, 95% oder 99%, Homologie zu einer der konkret offenbarten Sequenzen, berechnet nach dem Algorithmus von Pearson und Lipman, Proc. Natl. Acad, Sci. (USA) 85(8), 1988, 2444-2448.
- 10 Homologe der erfindungsgemäßen Proteine oder Polypeptide können durch Mutagenese erzeugt werden, z.B. durch Punktmutation oder Verkürzung des Proteins. Der Begriff "Homolog", wie er hier verwendet wird, betrifft eine variante Form des Proteins, die als Agonist oder Antagonist der Protein-Aktivität wirkt.
- 15 Homologe des erfindungsgemäßen Proteine können durch Screening kombinatorischer Banken von Mutanten, wie z.B. Verkürzungsmutanten, identifiziert werden. Beispielsweise kann eine variierte Bank von Protein-Varianten durch kombinatorische Mutagenese auf Nukleinsäureebene erzeugt werden, wie z.B. durch enzymatisches Ligieren eines Gemisches synthetischer Oligonukleotide. Es gibt eine Vielzahl von Verfahren, die zur Herstellung von Banken potentieller
- 20 Homologer aus einer degenerierten Oligonukleotidsequenz verwendet werden können. Die chemische Synthese einer degenerierten Gensequenz kann in einem DNA-Syntheseautomaten durchgeführt werden, und das synthetische Gen kann dann in einen geeigneten Expressionsvektor ligiert werden. Die Verwendung eines degenerierten Gensatzes ermöglicht die Bereitstellung sämtlicher Sequenzen in einem Gemisch, die den gewünschten Satz an potentiellen Proteinsequenzen codieren. Verfahren zur Synthese degenerierter Oligonukleotide sind dem Fach-
- 25 mann bekannt (Z.B. Narang, S.A. (1983) Tetrahedron 39:3; Itakura et al. (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakura et al., (1984) Science 198:1056; Ike et al. (1983) Nucleic Acids Res. 11:477).
- 30 Zusätzlich können Banken von Fragmenten des Protein-Codons verwendet werden, um eine variierte Population von Protein-Fragmenten zum Screening und zur anschließenden Selektion von Homologen eines erfindungsgemäßen Proteins zu erzeugen. Bei einer Ausführungsform kann eine Bank von kodierenden Sequenzfragmenten durch Behandeln eines doppelsträngigen PCR-Fragmentes einer kodierenden Sequenz mit einer Nuklease unter Bedingungen, unter de-
- 35 nen ein Nicking nur etwa einmal pro Molekül erfolgt, Denaturieren der doppelsträngigen DNA, Renaturieren der DNA unter Bildung doppelsträngiger DNA, die Sense-/Antisense-Paare von verschiedenen genickten Produkten umfassen kann, Entfernen einzelsträngiger Abschnitte aus neu gebildeten Duplices durch Behandlung mit S1-Nuclease und Ligieren der resultierenden

Fragmentbank in einen Expressionsvektor erzeugt werden. Durch dieses Verfahren kann eine Expressionsbank hergeleitet werden, die N-terminale, C-terminale und interne Fragmente mit verschiedenen Größen des erfindungsgemäßen Proteins kodiert.

- 5 Im Stand der Technik sind mehrere Techniken zum Screening von Genprodukten kombinatorischer Banken, die durch Punktmutationen oder Verkürzung hergestellt worden sind, und zum Screening von cDNA-Banken auf Genprodukte mit einer ausgewählten Eigenschaft bekannt. Diese Techniken lassen sich an das schnelle Screening der Genbanken anpassen, die durch kombinatorische Mutagenese erfindungsgemäßer Homologer erzeugt worden sind. Die am häufigsten verwendeten Techniken zum Screening großer Genbanken, die einer Analyse mit hohem Durchsatz unterliegen, umfassen das Klonieren der Genbank in replizierbare Expressionsvektoren, Transformieren der geeigneten Zellen mit der resultierenden Vektorenbank und Exprimieren der kombinatorischen Gene unter Bedingungen, unter denen der Nachweis der gewünschten Aktivität die Isolation des Vektors, der das Gen codiert, dessen Produkt nachgewiesen wurde, erleichtert. Recursive-Ensemble-Mutagenese (REM), eine Technik, die die Häufigkeit funktioneller Mutanten in den Banken vergrößert, kann in Kombination mit den Screeningtests verwendet werden, um Homologe zu identifizieren (Arkin und Yourvan (1992) PNAS 89:7811-7815; Delgrave et al. (1993) Protein Engineering 6(3):327-331

20 c) Erfindungsgemäße Polynukleotide

Gegenstand der Erfindung sind ebenso Nukleinsäuresequenzen (einzeln- und doppelsträngige DNA- und RNA-Sequenzen, wie z.B. cDNA und mRNA), kodierend für eines der obigen metF-Enzyme und deren funktionalen Äquivalenten, welche z.B. auch unter Verwendung künstlicher Nukleotidanaloga zugänglich sind.

Die Erfindung betrifft sowohl isolierte Nukleinsäuremoleküle, welche für erfindungsgemäße Polypeptide bzw. Proteine oder biologisch aktive Abschnitte davon kodieren, sowie Nukleinsäurefragmente, die z.B. zur Verwendung als Hybridisierungssonden oder Primer zur Identifizierung oder Amplifizierung von erfindungsgemäßer kodierenden Nukleinsäuren verwendet werden können.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle können zudem untranslatierte Sequenzen vom 3'- und/oder 5'-Ende des kodierenden Genbereichs enthalten

Ein "isoliertes" Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure zugegen sind und kann überdies im wesentlichen frei von anderem zellulären Material oder Kulturmedium sein, wenn es durch rekombinante Techni-

ken hergestellt wird, oder frei von chemischen Vorstufen oder anderen Chemikalien sein, wenn es chemisch synthetisiert wird.

5 Die Erfindung umfasst weiterhin die zu den konkret beschriebenen Nukleotidsequenzen komplementären Nukleinsäuremoleküle oder einen Abschnitt davon.

10 Die erfindungsgemäß Nukleotidsequenzen ermöglichen die Erzeugung von Sonden und Primern, die zur Identifizierung und/oder Klonierung von homologer Sequenzen in anderen Zelltypen und Organismen verwendbar sind. Solche Sonden bzw. Primer umfassen gewöhnlich einen Nukleotidsequenzbereich, der unter stringenten Bedingungen an mindestens etwa 12, vorzugsweise mindestens etwa 25, wie z.B. etwa 40, 50 oder 75 aufeinanderfolgende Nukleotide eines Sense-Stranges einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz oder eines entsprechenden Antisense-Stranges hybridisiert.

15 Weitere erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenzen sind abgeleitet von SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 oder 53 und unterscheiden sich davon durch Addition, Substitution, Insertion oder Deletion einzelner oder mehrerer Nukleotide, kodieren aber weiterhin für Polypeptide mit dem gewünschten Eigenschaftsprofil. Dies können Polynukleotide sein, die zu obigen Sequenzen in mindestens etwa 50%, 55%,  
20 60%, 65%, 70%, 80% oder 90%, vorzugsweise in mindestens etwa 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% der Sequenzpositionen identisch sind.

25 Erfindungsgemäß umfasst sind auch solche Nukleinsäuresequenzen, die sogenannte stumme Mutationen umfassen oder entsprechend der Codon-Nutzung eines speziellen Ursprungs- oder Wirtsorganismus, im Vergleich zu einer konkret genannten Sequenz verändert sind, ebenso wie natürlich vorkommende Varianten, wie z.B. Spleißvarianten oder Allelvarianten, davon. Gegenstand sind ebenso durch konservative Nukleotidsubstitutionen (d.h. die betreffende Aminosäure wird durch eine Aminosäure gleicher Ladung, Größe, Polarität und/oder Löslichkeit ersetzt) erhältliche Sequenzen.

30

Gegenstand der Erfindung sind auch die durch Sequenzpolymorphismen von den konkret offenbarten Nukleinsäuren abgeleiteten Moleküle. Diese genetischen Polymorphismen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund der natürlichen Variation existieren. Diese natürlichen Variationen bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz eines Gens.  
35

Weiterhin umfasst die Erfindung auch Nukleinsäuresequenzen, welchen mit oben genannten kodierenden Sequenzen hybridisieren oder dazu komplementär sind. Diese Polynukleotide las-

sen sich bei Durchmusterung von genomischen oder cDNA-Banken auffinden und gegebenenfalls daraus mit geeigneten Primern mittels PCR vermehren und anschließend beispielsweise mit geeigneten Sonden isolieren. Eine weitere Möglichkeit bietet die Transformation geeigneter Mikroorganismen mit erfindungsgemäßen Polynukleotiden oder Vektoren, die Vermehrung der Mikroorganismen und damit der Polynukleotide und deren anschließende Isolierung. Darüber hinaus können erfindungsgemäße Polynukleotide auch auf chemischem Wege synthetisiert werden.

Unter der Eigenschaft, an Polynukleotide „hybridisieren“ zu können, versteht man die Fähigkeit eines Poly- oder Oligonukleotids unter stringenten Bedingungen an eine nahezu komplementäre Sequenz zu binden, während unter diesen Bedingungen unspezifische Bindungen zwischen nicht-komplementären Partnern unterbleiben. Dazu sollten die Sequenzen zu 70-100%, vorzugsweise zu 90-100%, komplementär sein. Die Eigenschaft komplementärer Sequenzen, spezifisch aneinander binden zu können, macht man sich beispielsweise in der Northern- oder Southern-Blot-Technik oder bei der Primerbindung in PCR oder RT-PCR zunutze. Üblicherweise werden dazu Oligonukleotide ab einer Länge von 30 Basenpaaren eingesetzt. Unter stringenten Bedingungen versteht man beispielsweise in der Northern-Blot-Technik die Verwendung einer 50 – 70 °C, vorzugsweise 60 – 65 °C warmen Waschlösung, beispielsweise 0,1x SSC-Puffer mit 0,1% SDS (20x SSC: 3M NaCl, 0,3M Na-Citrat, pH 7,0) zur Elution unspezifisch hybridisierter cDNA-Sonden oder Oligonukleotide. Dabei bleiben, wie oben erwähnt, nur in hohem Maße komplementäre Nukleinsäuren aneinander gebunden. Die Einstellung stringenter Bedingungen ist dem Fachmann bekannt und ist z.B. in Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. beschrieben.

c) Isolierung der kodierenden metF-Gene

Die für das Enzym Methylentetrahydrofolat Reduktase kodierenden metF-Gene aus den Organismen obiger Liste I sind in an sich bekannter Weise isolierbar.

Zur Isolierung der metF-Gene oder auch anderer Gene der Organismen aus obiger Liste I wird zunächst eine Genbank dieses Organismus in Escherichia coli (E. coli) angelegt. Das Anlegen von Genbanken ist in allgemein bekannten Lehrbüchern und Handbüchern ausführlich beschrieben. Als Beispiel seien das Lehrbuch von Winnacker: Gene und Klone, Eine Einführung in die Gentechnologie (Verlag Chemie, Weinheim, Deutschland, 1990), oder das Handbuch von Sambrook et al.: Molecular Cloning, A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) genannt. Eine sehr bekannte Genbank ist die des E. coli K-12 Stammes W3110, die von Kohara et al. (Cell 50, 495-508 (198)) in  $\lambda$ -Vektoren angelegt wurde.

Zur Herstellung einer Genbank von Organismen der Liste I in *E. coli* können Cosmide, wie der Cosmidvektor SuperCos I (Wahl et al., 1987, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 84: 2160-2164), aber auch Plasmide, wie pBR322 (BoliVal; Life Sciences, 25, 807-818 (1979)) oder pUC9 (Vieira et al., 1982, Gene, 19: 259-268), verwendet werden. Als Wirte eignen sich besonders solche *E. coli* Stämme, die restriktions- und rekombinationsdefekt sind. Ein Beispiel hierfür ist der Stamm DH5 $\alpha$ mcr, der von Grant et al. (Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 87 (1990) 4645-4649) beschrieben wurde. Die mit Hilfe von Cosmiden klonierten langen DNA-Fragmente können anschließend wiederum in gängige, für die Sequenzierung geeignete Vektoren subkloniert und anschließend sequenziert werden, so wie es z. B. bei Sanger et al. (proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 74: 5463-5467, 1977) beschrieben ist.

Die erhaltenen DNA-Sequenzen können dann mit bekannten Algorithmen bzw. Sequenzanalyse-Programmen, wie z. B. dem von Staden (Nucleic Acids Research 14,217-232(1986)), dem von Marck (Nucleic Acids Research 16, 1829-1836 (1988)) oder dem GCG-Programm von Butler (Methods of Biochemical Analysis 39, 74-97 (1998)), untersucht werden.

Die für die metF-Gene kodierenden DNA-Sequenzen von Organismen gemäß obiger Liste I wurden gefunden. Insbesondere wurden DNA-Sequenzen gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 gefunden. Weiterhin wurde aus diesen vorliegenden DNA-Sequenzen mit den oben beschriebenen Methoden die Aminosäuresequenzen der entsprechenden Proteine abgeleitet. Durch SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 und 54 sind die sich ergebenden Aminosäuresequenzen der metF-Genprodukte dargestellt.

Kodierende DNA-Sequenzen, die sich aus den Sequenzen gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 durch die Degeneration des genetischen Kodes ergeben, sind ebenfalls Gegenstand der Erfindung. In gleicher Weise sind DNA-Sequenzen, die mit diesen Sequenzen oder davon abgeleiteten Sequenzteilen hybridisieren, Gegenstand der Erfindung.

Anleitungen zur Identifizierung von DNA-Sequenzen mittels Hybridisierung findet der Fachmann unter anderem im Handbuch "The DIG System Users Guide für Filter Hybridization" der Firma Boehringer Mannheim GmbH (Mannheim, Deutschland, 1993) und bei Liebl et al. (International Journal of Systematic Bacteriology (1991) 41: 255-260). Anleitungen zur Amplifikation von DNA-Sequenzen mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) findet der Fachmann unter anderem im Handbuch von Gait: Oligonukleotide synthesis: A Practical Approach (IRL Press, Oxford,

UK, 1984) und bei Newton und Graham: PCR (Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Deutschland, 1994).

Weiterhin ist bekannt, dass Änderungen am N- und/oder C- Terminus eines Proteins dessen Funktion nicht wesentlich beeinträchtigen oder sogar stabilisieren können. Angaben hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Ben-Bassat et al. (Journal of Bacteriology 169: 751-757 (1987)), bei O'Regan et al. (Gene 77: 237-251 (1989)), bei Sahin-Toth et al. (Protein Sciences 3: 240-247 (1994)), bei Hochuli et al. (Biotechnology 6: 1321-1325 (1988)) und in bekannten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

Aminosäuresequenzen, die sich in entsprechender Weise aus den SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 und 54 ergeben, sind ebenfalls Bestandteil der Erfindung.

d) Erfindungsgemäß verwendete Wirtszellen

Weitere Gegenstände der Erfindung betreffen als Wirtszelle dienende Mikroorganismen, insbesondere coryneforme Bakterien, die einen Vektor, insbesondere Pendelvektor oder Plasmidvektor, der wenigstens ein metF-Gen erfindungsgemäßer Definition trägt, enthalten oder in denen ein erfindungsgemäßes metF-Gen exprimiert bzw. verstärkt ist.

Diese Mikroorganismen können schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, aus Glucose, Saccharose, Lactose, Fructose, Maltose, Melasse, Stärke, Cellulose oder aus Glycerin und Ethanol herstellen. Vorzugsweise sind dies coryneforme Bakterien, insbesondere der Gattung Corynebacterium. Aus der Gattung Corynebacterium ist insbesondere die Art Corynebacterium glutamicum zu nennen, die in der Fachwelt für ihre Fähigkeit bekannt ist, L-Aminosäuren zu produzieren.

Als Beispiele für geeignete Stämme coryneformer Bakterien sind solche der Gattung Corynebacterium, insbesondere der Art Corynebacterium glutamicum (C. glutamicum), wie Corynebacterium glutamicum ATCC 13032, Corynebacterium acetoglutamicum ATCC 15806, Corynebacterium acetoacidophilum ATCC 13870, Corynebacterium thermoaminogenes FERM BP-1539, Corynebacterium melassecola ATCC 17965

oder

der Gattung Brevibacterium, wie



Brevibacterium flavum ATCC 14067  
Brevibacterium lactofermentum ATCC 13869 und  
Brevibacterium divaricatum ATCC 14020 zu nennen;  
oder davon abgeleitete Stämme, wie  
5 Corynebacterium glutamicum KFCC10065  
Corynebacterium glutamicum ATCC21608

welche ebenfalls die gewünschte Feinchemikalie oder deren Vorstufe(n) produzieren.

10 Mit der Abkürzung KFCC ist die Korean Federation of Culture Collection gemeint, mit der Abkürzung ATCC die American type strain culture collection, mit der Abkürzung FERM BP die Sammlung des National institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science and Technology, Japan bezeichnet.

15 e) Durchführung der erfindungsgemäßen Fermentation

Erfindungsgemäß wurde festgestellt, dass coryneforme Bakterien nach Überexpression eines metF-Gens aus Organismen der Liste I in vorteilhafter Weise schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, produzieren.

20 Zur Erzielung einer Überexpression kann der Fachmann unterschiedliche Maßnahmen einzeln oder in Kombination ergreifen. So kann die Kopienzahl der entsprechenden Gene erhöht werden, oder es kann die Promotor- und Regulationsregion oder die Ribosomenbindungsstelle, die sich stromaufwärts des Strukturgens befindet, mutiert werden. In gleicher Weise wirken Expressionskassetten, die stromaufwärts des Strukturgens eingebaut werden. Durch induzierbare Promotoren ist es zusätzlich möglich, die Expression im Verlaufe der fermentativen L-Methionin-Produktion zu steigern. Durch Maßnahmen zur Verlängerung der Lebensdauer der mRNA wird ebenfalls die Expression verbessert. Weiterhin wird durch Verhinderung des Abbaus des Enzymproteins ebenfalls die Enzymaktivität verstärkt. Die Gene oder Genkonstrukte können entweder in Plasmiden mit unterschiedlicher Kopienzahl vorliegen oder im Chromosom integriert und amplifiziert sein. Alternativ kann weiterhin eine Überexpression der betreffenden Gene durch Veränderung der Medienzusammensetzung und Kulturführung erreicht werden.

35 Anleitungen hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Martin et al. (Biotechnology 5, 137-146 (1987)), bei Guerrero et al. (Gene 138, 35-41 (1994)), Tsuchiya und Morinaga (Bio/Technology 6, 428-430 (1988)), bei Eikmanns et al. (Gene 102, 93-98 (1991)), in der Europäischen Patentschrift 0472869, im US Patent 4,601,893, bei Schwarzer und Pühler (Biotechnology 9, 84-87 (1991)), bei Remscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60, 126-132

(1994), bei LaBarre et al. (Journal of Bacteriology 175, 1001-1007 (1993)), in der Patentanmeldung WO 96/15246, bei Malumbres et al. (Gene 134, 15-24 (1993)), in der japanischen Offenlegungsschrift JP-A-10-229891, bei Jensen und Hammer (Biotechnology and Bioengineering 58, 191-195 (1998)), bei Makrides (Microbiological Reviews 60 : 512-538 (1996) und in bekannten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

Gegenstand der Erfindung sind deshalb auch Expressionskonstrukte, enthaltend unter der genetischen Kontrolle regulativer Nukleinsäuresequenzen eine für ein erfindungsgemäßes Polypeptid kodierende Nukleinsäuresequenz; sowie Vektoren, umfassend wenigstens eines dieser Expressionskonstrukte. Vorzugsweise umfassen solche erfindungsgemäßen Konstrukte 5'-stromaufwärts von der jeweiligen kodierenden Sequenz einen Promotor und 3'-stromabwärts eine Terminatorsequenz sowie gegebenenfalls weitere übliche regulative Elemente, und zwar jeweils operativ verknüpft mit der kodierenden Sequenz. Unter einer „operativen Verknüpfung“ versteht man die sequentielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz, Terminator und gegebenenfalls weiterer regulativer Elemente derart, dass jedes der regulativen Elemente seine Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann. Beispiele für operativ verknüpfbare Sequenzen sind Aktivierungssequenzen sowie Enhancer und dergleichen. Weitere regulative Elemente umfassen selektierbare Marker, Amplifikationssignale, Replikationsursprünge und dergleichen. Geeignete regulatorische Sequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990).

Zusätzlich zu den artifiziellen Regulationssequenzen kann die natürliche Regulationssequenz vor dem eigentlichen Strukturgen noch vorhanden sein. Durch genetische Veränderung kann diese natürliche Regulation gegebenenfalls ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht oder erniedrigt werden. Das Genkonstrukt kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt es werden keine zusätzlichen Regulationssignale vor das Strukturgen insertiert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wird nicht entfernt. Statt dessen wird die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt und die Genexpression gesteigert oder verringert wird. Die Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im Genkonstrukt enthalten sein.

Beispiele für brauchbare Promotoren sind: die Promotoren, *ddh*, *amy*, *lysC*, *dapA*, *lysA* aus *Corynebacterium glutamicum*, aber auch gram-positiven Promotoren *SPO2* wie sie in *Bacillus Subtilis* and Its Closest Relatives, Sonenshein, Abraham L., Hoch, James A., Losick, Richard; ASM Press, District of Columbia, Washington und Patek M. Eikmanns B.J. Patek J. Sahm H. Microbiology. 142 1297-309, 1996 beschrieben sind, oder aber auch *cos*-, *tac*-, *trp*-, *tet*-, *trp-tet*-, *lpp*-, *lac*-, *lpp-lac*-, *lacIq*-, *T7*-, *T5*-, *T3*-, *gal*-, *trc*-, *ara*-, *SP6*-,  $\lambda$ -PR- oder im  $\lambda$ -PL-Promotor, die vorteil-

hafterweise in gram-negativen Bakterien Anwendung finden. Bevorzugt ist auch die Verwendung induzierbarer Promotoren, wie z.B. licht- und insbesondere temperaturinduzierbarer Promotoren, wie der  $P_{P_1}$ -Promotor. Prinzipiell können alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen verwendet werden. Darüber hinaus können auch synthetische Promotoren vorteilhaft verwendet werden.

Die genannten regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Nukleinsäuresequenzen ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert oder überexprimiert wird, oder dass es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei vorzugsweise die Expression positiv beeinflussen und dadurch erhöhen oder erniedrigen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt durch Fusion eines geeigneten Promotors, einer geeigneten Shine-Dalgarnow-Sequenz mit einer metF-Nukleotidsequenz sowie einem geeigneten Terminationssignal. Dazu verwendet man gängige Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in Current Protocols in Molecular Biology, 1993, John Wiley & Sons, Incorporated, New York New York, PCR Methods, Gelfand, David H., Innis, Michael A., Sninsky, John J. 1999, Academic Press, Incorporated, California, San Diego, .., PCR Cloning Protocols, Methods in Molecular Biology Ser., Vol. 192, 2nd ed., Humana Press, New Jersey, Totowa. T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. Berman und L.W. Enquist, Experiments with Gene Fusions, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience (1987) beschrieben sind.

Das rekombinante Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt wird zur Expression in einem geeigneten Wirtsorganismus vorteilhafterweise in einen wirtsspezifischen Vektor inseriert, der eine optimale Expression der Gene im Wirt ermöglicht. Vektoren sind dem Fachmann wohl bekannt und können beispielsweise aus "Cloning Vectors" (Pouwels P. H. et al., Hrsg, Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985) entnommen werden. Unter Vektoren sind außer Plasmiden auch alle anderen dem Fachmann bekannten Vektoren, wie beispielsweise Phagen, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Cosmide, und lineare oder zirkuläre DNA zu verstehen. Diese Vektoren

können autonom im Wirtsorganismus repliziert oder chromosomal repliziert werden.

5 Zur Verstärkung wurden erfindungsgemäße metF-Gene beispielhaft mit Hilfe von episomalen Plasmiden überexprimiert. Als Plasmide eignen sich solche, die in coryneformen Bakterien repliziert werden. Zahlreiche bekannte Plasmidvektoren, wie z. B. pZ1 (Menkel et al., Applied and Environmental Microbiology (1989) 64: 549-554), pEKE<sub>x</sub>1 (Eikmanns et al., Gene 102: 93-98 (1991)) oder pHS2-1 (Sonnen et al., Gene 107: 69-74 (1991)) beruhen auf den kryptischen Plasmiden pHM1519, pBL1 oder pGA1. Andere Plasmidvektoren, wie z. B. pCLiK5MCS, oder solche, die auf pCG4 (US-A 4,489,160) oder pNG2 (Serwold-Davis et al., FEMS Microbiology Letters 66, 119-124 (1990)) oder pAG1 (US-A 5,158,891) beruhen, können in gleicher Weise  
10 verwendet werden.

Weiterhin eignen sich auch solche Plasmidvektoren mit Hilfe derer man das Verfahren der Genamplifikation durch Integration in das Chromosom anwenden kann, so wie es beispielsweise  
15 von Remscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60,126-132 (1994)) zur Duplikation bzw. Amplifikation des hom-thrB-Operons beschrieben wurde. Bei dieser Methode wird das vollständige Gen in einen Plasmidvektor kloniert, der in einem Wirt (typischerweise E. coli), nicht aber in C. glutamicum replizieren kann. Als Vektoren kommen beispielsweise pSUP301 (Simon et al., Bio/ Technology 1,784-791 (1983)), pK18mob oder pK19mob (Schäfer et al., Gene 145,69-73 (1994)), Bernard et al., Journal of Molecular Biology, 234: 534-541 (1993)), pEM1 (Schrumpf et al. 1991, Journal of Bacteriology 173: 4510-4516) oder pBGS8 (Spratt et al., 1986, Gene 41: 337-342) in Frage. Der Plasmidvektor, der das zu amplifizierende Gen enthält, wird  
20 anschließend durch Transformation in den gewünschten Stamm von C. glutamicum überführt. Methoden zur Transformation sind beispielsweise bei Thierbach et al. (Applied Microbiology and Biotechnology 29, 356-362 (1988)), Dunican und Shivan (Biotechnology 7, 1067-1070 (1989)) und Tauch et al. (FEMS Microbiological Letters 123,343-347 (1994)) beschrieben.  
25

Enzyme können durch Mutationen in den korrespondierenden Genen derart in ihrer Aktivität beeinflusst werden, dass es zu einer teilweisen oder vollständigen Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit der enzymatischen Reaktion kommt. Beispiele für solche Mutationen sind dem  
30 Fachmann bekannt (Motoyama H. Yano H. Terasaki Y. Anazawa H. Applied & Environmental Microbiology. 67:3064-70, 2001, Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 64:145-63, 1993-94.)

35 Zusätzlich kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben einer Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen metF-Gen eines oder mehrere Enzyme des jeweiligen Biosyntheseweges, des Cystein-Stoffwechselwegs, der Aspartatsemialdehyd-Synthese, der Glykolyse, der Anaplerotik, des Pen-

tose-Phosphat-Stoffwechsels, des Zitronensäure-Zyklus oder des Aminosäure-Exports zu verstärken.

So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin,

5 eines oder mehrere der folgenden Gene verstärkt sein:

- das für eine Aspartatkinase kodierende Gen *lysC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),

- das für eine Aspartat-Semialdehyd Dehydrogenase kodierende Gen *asd* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 282),

10 - das für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierende Gen *gap* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierende Gen *pgk* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen *pyc* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

15 - das für die Triosephosphat Isomerase kodierende Gen *tpi* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierende Gen *metA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 725),

20 - das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen *metB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3491),

- das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen *metC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),

- das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen *glyA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1110),

25 - das für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierende Gen *metY* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),

- das für die Methionin Synthase kodierende Gen *metH* (EP 1 108 790 A2),

- das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen *serC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 928)

30 - eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen *serB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)

- das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen *cysE* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2818)

35 - das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen *hom* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1306)

So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, in coryneformen Bakterien, vorteilhaft sein, gleichzeitig wenigstens eines der nachfolgenden Gene

zu mutieren, so dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch einen Stoffwechselmetaboliten in ihrer Aktivität beeinflusst werden:

- 5    - das für eine Aspartatkinase kodierende Gen *lysC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),
- das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen *pyc* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
- das für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierende Gen *metA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 725),
- 10   - das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen *metB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3491),
- das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen *metC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),
- das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen *glyA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ
- 15   NO. 1110),
- das für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierende Gen *metY* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),
- das für die Methionin Synthase kodierende Gen *metH* (EP 1 108 790 A2),
- das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen *serC* (EP 1 108 790 A2; DNA-
- 20   SEQ NO. 928)
- eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen *serB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)
- das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen *cysE* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2818)
- 25   - das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen *hom* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1306)

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsge-  
30   mäßigen *metF*-Gene eines oder mehrere der folgenden Gene abzuschwächen, insbesondere deren Expression zu verringern, oder auszuschalten:

- das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen *thrB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)
- das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen *ilvA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO.
- 35   2328)
- das für die Threonin Synthase kodierende Gen *thrC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)
- das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen *ddh* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3494)

- das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen pck (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3157)
- das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen pgi (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 950)
- 5 - das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen poxB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)
- das für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierende Gen dapA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3476)
- das für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierende Gen dapB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3477)
- 10 - das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierende Gen lysA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3451)

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsgemäßen metF-Gene in coryneformen Bakterien gleichzeitig wenigstens eines der folgenden Gene so zu mutieren, dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise oder vollständig verringert wird:

- das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen thrB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)
- 20 - das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen ilvA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2328)
- das für die Threonin Synthase kodierende Gen thrC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)
- das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen ddh (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3494)
- 25 - das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen pck (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3157)
- das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen pgi (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 950)
- das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen poxB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)
- 30 - das für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierende Gen dapA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3476)
- das für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierende Gen dapB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3477)
- das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierende Gen lysA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3451)
- 35

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben der Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen

metF-Gens unerwünschte Nebenreaktionen auszuschalten (Nakayama: "Breeding of Amino Acid Producing Microorganisms", in: Overproduction of Microbial Products, Krumphanzl, Sikyta, Vanek (eds.), Academic Press, London, UK, 1982).

- 5 Die erfindungsgemäß hergestellten Mikroorganismen können kontinuierlich oder diskontinuierlich im batch- Verfahren (Satzkultivierung) oder im fed batch (Zulaufverfahren) oder repeated fed batch Verfahren (repetitives Zulaufverfahren) zur Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, kultiviert werden. Eine Zusammenfassung über bekannte Kultivierungsmethoden ist im Lehrbuch von Chmiel (Bioprozeßtechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) oder im Lehrbuch von Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)) zu finden.

- 15 Das zu verwendende Kulturmedium hat in geeigneter Weise den Ansprüchen der jeweiligen Stämme zu genügen. Beschreibungen von Kulturmedien verschiedener Mikroorganismen sind im Handbuch "Manual of Methods für General Bacteriology" der American Society für Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981) enthalten.

- 20 Diese erfindungsgemäß einsetzbaren Medien umfassen gewöhnlich eine oder mehreren Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen, anorganische Salze, Vitamine und/oder Spurenelemente.

- Bevorzugte Kohlenstoffquellen sind Zucker, wie Mono-, Di- oder Polysaccharide. Sehr gute Kohlenstoffquellen sind beispielsweise Glucose, Fructose, Mannose, Galactose, Ribose, Sorbose, Ribulose, Lactose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Stärke oder Cellulose. Man kann Zucker auch über komplexe Verbindungen, wie Melassen, oder andere Nebenprodukte der Zucker-Raffinierung zu den Medien geben. Es kann auch vorteilhaft sein, Gemische verschiedener Kohlenstoffquellen zuzugeben. Andere mögliche Kohlenstoffquellen sind Öle und Fette wie z. B. Sojaöl. Sonnenblumenöl. Erdnußöl und Kokosfett, Fettsäuren wie z. B. Palmitinsäure, Stearinsäure oder Linolsäure, Alkohole wie z. B. Glycerin, Methanol oder Ethanol und organische Säuren wie z. B. Essigsäure oder Milchsäure.

- 30 Stickstoffquellen sind gewöhnlich organische oder anorganische Stickstoffverbindungen oder Materialien, die diese Verbindungen enthalten. Beispielhafte Stickstoffquellen umfassen Ammoniak-Gas oder Ammoniumsalze, wie Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Ammoniumphosphat, Ammoniumcarbonat oder Ammoniumnitrat, Nitrate, Harnstoff, Aminosäuren oder komplexe Stickstoffquellen, wie Maisquellwasser, Sojamehl, Sojaprotein, Hefeextrakt, Fleischextrakt und andere. Die Stickstoffquellen können einzeln oder als Mischung verwendet werden.

Anorganische Salzverbindungen, die in den Medien enthalten sein können, umfassen die Chlo-



rid-, Phosphor- oder Sulfatsalze von Calcium, Magnesium, Natrium, Kobalt, Molybdän, Kalium, Mangan, Zink, Kupfer und Eisen

Als Schwefelquelle für die Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere von Methionin, können anorganische schwefelhaltige Verbindungen wie beispielsweise Sulfate, Sulfite, Dithionite, Tetrathionate, Thiosulfate, Sulfide aber auch organische Schwefelverbindungen, wie Mercaptane und Thiole, verwendet werden.

Als Phosphorquelle können Phosphorsäure, Kaliumdihydrogenphosphat oder Dikaliumhydrogenphosphat oder die entsprechenden Natrium haltigen Salze verwendet werden.

Chelatbildner können zum Medium gegeben werden, um die Metallionen in Lösung zu halten. Besonders geeignete Chelatbildner umfassen Dihydroxyphenole, wie Catechol oder Protocatechuat, oder organische Säuren, wie Citronensäure.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Fermentationsmedien enthalten üblicherweise auch andere Wachstumsfaktoren, wie Vitamine oder Wachstumsförderer, zu denen beispielsweise Biotin, Riboflavin, Thiamin, Folsäure, Nikotinsäure, Panthothenat und Pyridoxin gehören. Wachstumsfaktoren und Salze stammen häufig von komplexen Medienkomponenten, wie Hefeextrakt, Melassen, Maisquellwasser und dergleichen. Dem Kulturmedium können überdies geeignete Vorstufen zugesetzt werden. Die genaue Zusammensetzung der Medienverbindungen hängt stark vom jeweiligen Experiment ab und wird für jeden spezifischen Fall individuell entschieden. Information über die Medienoptimierung ist erhältlich aus dem Lehrbuch "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Hrsg. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) S. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Wachstumsmedien lassen sich auch von kommerziellen Anbietern beziehen, wie Standard 1 (Merck) oder BHI (Brain heart infusion, DIFCO) und dergleichen.

Sämtliche Medienkomponenten werden, entweder durch Hitze (20 min bei 1,5 bar und 121°C) oder durch Sterilfiltration, sterilisiert. Die Komponenten können entweder zusammen oder nötigenfalls getrennt sterilisiert werden. Sämtliche Medienkomponenten können zu Beginn der Anzucht zugegen sein oder wahlfrei kontinuierlich oder chargenweise hinzugegeben werden.

Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise zwischen 15°C und 45°C, vorzugsweise bei 25°C bis 40°C und kann während des Experimentes konstant gehalten oder verändert werden. Der pH-Wert des Mediums sollte im Bereich von 5 bis 8,5, vorzugsweise um 7,0 liegen. Der pH-Wert für die Anzucht läßt sich während der Anzucht durch Zugabe von basische Verbindungen wie Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid, Ammoniak bzw. Ammoniakwasser oder saure Verbindungen wie Phosphorsäure oder Schwefelsäure kontrollieren. Zur Kontrolle der Schaumentwicklung

können Antischaummittel, wie z. B. Fettsäurepolyglykolester, eingesetzt werden. Zur Aufrechterhaltung der Stabilität von Plasmiden können dem Medium geeignete selektiv wirkende Stoffe, wie z. B. Antibiotika, hinzugefügt werden. Um aerobe Bedingungen aufrechtzuerhalten, werden Sauerstoff oder Sauerstoff haltige Gasmischungen, wie z. B. Umgebungsluft, in die Kultur eingetragen. Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise bei 20°C bis 45°C. Die Kultur wird solange fortgesetzt, bis sich ein Maximum des gewünschten Produktes gebildet hat. Dieses Ziel wird normalerweise innerhalb von 10 Stunden bis 160 Stunden erreicht.

Die so erhaltenen, insbesondere L-Methionin enthaltenden, Fermentationsbrühen haben üblicherweise eine Trockenmasse von 7,5 bis 25 Gew.-%.

Vorteilhaft ist außerdem auch, wenn die Fermentation zumindest am Ende, insbesondere jedoch über mindestens 30% der Fermentationsdauer zuckerlimitiert gefahren wird. Das heißt, dass während dieser Zeit die Konzentration an verwertbarem Zucker im Fermentationsmedium auf  $\geq 0$  bis 3 g/l gehalten, beziehungsweise abgesenkt wird.

Die Fermentationsbrühe wird anschließend weiterverarbeitet. Je nach Anforderung kann die Biomasse ganz oder teilweise durch Separationsmethoden, wie z. B. Zentrifugation, Filtration, Dekantieren oder einer Kombination dieser Methoden aus der Fermentationsbrühe entfernt oder vollständig in ihr belassen werden.

Anschließend kann die Fermentationsbrühe mit bekannten Methoden, wie z. B. mit Hilfe eines Rotationsverdampfers, Dünnschichtverdampfers, Fallfilmverdampfers, durch Umkehrosmose, oder durch Nanofiltration, eingedickt beziehungsweise aufkonzentriert werden. Diese aufkonzentrierte Fermentationsbrühe kann anschließend durch Gefriertrocknung, Sprühtrocknung, Sprühgranulation oder durch anderweitige Verfahren aufgearbeitet werden.

Es ist aber auch möglich die schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, weiter aufzureinigen. Hierzu wird die produkthaltige Brühe nach dem Abtrennen der Biomasse einer Chromatographie mit einem geeigneten Harz unterworfen, wobei das gewünschte Produkt oder die Verunreinigungen ganz oder teilweise auf dem Chromatographieharz zurückgehalten werden. Diese Chromatographieschritte können nötigenfalls wiederholt werden, wobei die gleichen oder andere Chromatographieharze verwendet werden. Der Fachmann ist in der Auswahl der geeigneten Chromatographieharze und ihrer wirksamsten Anwendung bewandert. Das gereinigte Produkt kann durch Filtration oder Ultrafiltration konzentriert und bei einer Temperatur aufbewahrt werden, bei der die Stabilität des Produktes maximal ist.

Die Identität und Reinheit der isolierten Verbindung(en) kann durch Techniken des Standes der

Technik bestimmt werden. Diese umfassen Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), spektroskopische Verfahren, Färbeverfahren, Dünnschichtchromatographie, NIRS, Enzymtest oder mikrobiologische Tests. Diese Analyseverfahren sind zusammengefaßt in: Patek et al. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60:133-140; Malakhova et al. (1996) Biotekhnologiya 11 27-32; und Schmidt et al. (1998) Bioprocess Engineer. 19:67-70. Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH: Weinheim, S. 89-90, S. 521-540, S. 540-547, S. 559-566, 575-581 und S. 581-587; Michal, G (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley and Sons; Fallon, A. et al. (1987) Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17.

Die Erfindung wird nun anhand der folgenden nicht-limitierenden Beispiele und unter Bezugnahme auf beiliegende Figuren näher beschrieben. Dabei zeigt

Figur 1 die Plasmidkarte zu Plasmid pChysC;

Figur 2 die Plasmidkarte zu Plasmid pCISlysCthr311ile;

Figur 3 die Plasmidkarte zu Plasmid pC\_metF\_Cd.

Restriktionsschnittstellen mit der entsprechenden Positionsangabe in Klammern sind in den Plasmidkarten angegeben. Wesentliche Sequenzabschnitte sind fettgedruckt beschrieben. KanR steht für Kanamycin-Resistenzgen; ask steht für Aspartatkinasegen.

### Beispiel 1: Konstruktion von pCLiK5MCS

Zunächst wurden Ampicillinresistenz und Replikationsursprung des Vektors pBR322 mit den Oligonukleotiden p1.3 (SEQ ID NO:55) und p2.3 (SEQ ID NO:56) mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert.

p1.3 (SEQ ID NO:55)

5'-CCCGGGATCCGCTAGCGGCGCGCCGGCCGGCCCGGTGTGAAATACCGCACAG-3'

p2.3 (SEQ ID NO:56)

5'-TCTAGACTCGAGCGGCCGCGGCCGGCCTTTAAATTGAAGACGAAAGGGCCTCG-3'

Neben den zu pBR322 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid p1.3 (SEQ ID NO:55) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen SmaI, BamHI, NheI und AscI und das Oligonukleotid p2.3 (SEQ ID NO:56) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, XhoI, NotI und DraI. Die PCR Reaktion wurde nach Stan-

dardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,1 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Die stumpfen Enden des DNA-Fragmentes wurden mit dem Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers miteinander ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK1.

Ausgehend vom Plasmid pWLT1 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden neo1 (SEQ ID NO:57) und neo2 (SEQ ID NO:58) eine Kanamycin-Resistenzcassette amplifiziert.

neo1 (SEQ ID NO:57):

5'-GAGATCTAGACCCGGGGATCCGCTAGCGGGCTGCTAAAGGAAGCGGA-3'

neo2 (SEQ ID NO:58):

5'-GAGAGGCGCGCCGCTAGCGTGGGCGAAGAACTCCAGCA-3'

Neben den zu pWLT1 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid neo1 in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, SmaI, BamHI, NheI und das Oligonukleotid neo2 (SEQ ID NO:58) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen AscI und NheI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,3 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und AscI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK1 wurde ebenfalls mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und AscI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers

dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 2,1kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) und Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

10

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK2.

15

Der Vektor pCLiK2 wurde mit der Restriktionsendonuklease DraI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ca. 2,3 kb großes Vektorfragment mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers religiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben (1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

20

25

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK3.

30

Ausgehend vom Plasmid pWLQ2 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden cg1 ((SEQ ID NO:59) und cg2 (SEQ ID NO:60) der Replikationsursprung pHM1519 amplifiziert.

cg1 (SEQ ID NO:59):

35

5'-GAGAGGGCGGCCGCGCAAAGTCCCGCTTCGTGAA-3'

cg2 (SEQ ID NO:60):

5'-GAGAGGGCGGCCGCTCAAGTCGGTCAAGCCACGC-3'

Neben den zu pWLQ2 komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide cg1 (SEQ ID NO:59) und cg2 (SEQ ID NO:60) Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,7 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK3 wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 2,3kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5.

Für die Erweiterung von pCLiK5 um eine „multiple cloning site“ (MCS) wurden die beide synthetischen, weitestgehend komplementären Oligonukleotide HS445 ((SEQ ID NO:61) und HS446 (SEQ ID NO:62), die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen SwaI, XhoI, AatI, ApaI, Asp718, MluI, NdeI, SpeI, EcoRV, SalI, ClaI, BamHI, XbaI und SmaI enthalten, durch gemeinsames erhitzen auf 95°C und langsames abkühlen zu einem doppelsträngigen DNA-Fragment vereinigt.

HS445 (SEQ ID NO:61):

5'-TCGAATTTAAATCTCGAGAGGCCTGACGTCGGGCCCCGGTACCACGCGTCATATGACTAG  
TTCGGACCTAGGGATATCGTCGACATCGATGCTCTTCTGCGTTAATTAACAATTGGGATCC  
TCTAGACCCGGGATTAAAT-3'

HS446 (SEQ ID NO:62):

5'-GATCATTAAATCCCGGGTCTAGAGGATCCCAATTGTTAATTAAACGCAGAAGAGCATCGA  
TGTCGACGATATCCCTAGGTCCGAAGTAGTCATATGACGCGTGGTACCGGGCCCGACGTC  
AGGCCTCTCGAGATTAAAT-3'

5

Der Vektor pCLiK5 wurde mit den Restriktionsendonuklease XhoI und BamHI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 5,0 kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem synthetischen Doppelsträngigen DNA-Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS.

Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

Das entstandene Plasmid pCLiK5MCS ist als SEQ ID NO: 65 aufgeführt.

#### Beispiel 2: Konstruktion von pCLiK5MCS integrativ sacB

Ausgehend vom Plasmid pK19mob (Schäfer et al., Gene 145,69-73(1994)) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden BK1732 und BK1733 das Bacillus subtilis sacB Gen (kodierend für Levan Sucrase) amplifiziert.

BK1732 (SEQ ID NO:63):

5'-GAGAGCGGCCGCGGATCCTTTTTTAACCCATCAC-3'

BK1733 (SEQ ID NO:64):

5'-AGGAGCGGCCGCCATCGGCATTTTCTTTTGCG-3'

Neben den zu pEK19mobsac komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide BK1732 und BK1733 Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,9 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt.

Der Vektor pCLiK5MCS (hergestellt gemäß Beispiel 1) wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ungefähr 2,4 kb großes Vektorfragment mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS integrativ sacB.

Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

Das entstandene Plasmid pCLiK5MCS integrativ sacB ist als SEQ ID NO: 66 aufgeführt.

Weitere Vektoren die zur erfindungsgemäßen Expression oder Überproduktion von metF-Genen geeignet sind, können in analoger Weise hergestellt werden.

**Beispiel 3: Isolierung des lysC Gens aus dem C. glutamicum Stamm LU1479**



Im ersten Schritt der Stammkonstruktion soll ein allelischer Austausch des lysC Wildtypgens, kodierend für das Enzym Aspartatkinase, in *C. glutamicum* ATCC13032, im folgenden LU1479 genannt, durchgeführt werden. Dabei soll im LysC Gen ein Nukleotidaustausch durchgeführt werden, so dass im resultierenden Protein die Aminosäure Thr an der Position 311 durch die Aminosäure Ile ausgetauscht ist.

Ausgehend von der chromosomalen DNA aus LU1479 als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotidprimern SEQ ID NO:67 und SEQ ID NO:68 lysC mit Hilfe des Pfu-Turbo PCR Systems (Stratagene USA) nach Angaben des Herstellers amplifiziert. Chromosomale DNA aus *C. glutamicum* ATCC 13032 wurde nach Tauch et al. (1995) Plasmid 33:168-179 oder Eikmanns et al. (1994) Microbiology 140:1817-1828 präpariert. Das amplifizierte Fragment wird an seinem 5'-Ende von einem Sall Restriktionsschnitt und an seinem 3'-Ende von einem MluI Restriktionsschnitt flankiert. Vor der Klonierung wurde das amplifizierte Fragment durch diese beiden Restriktionsenzyme verdaut und mit GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) aufgereinigt.

SEQ ID NO:67

5'-GAGAGAGAGACGCGTCCCAGTGGCTGAGACGCATC-3'

SEQ ID NO:68

5'-CTCTCTCTGTGCGACGAATTCAATCTTACGGCCTG-3'

Das erhaltene Polynukleotid wurde über die Sall und MluI Restriktionsschnitte in pCLIK5 MCS integrativ SacB (im folgenden pCIS genannt; SEQ ID NO: 66 aus Beispiel 2) kloniert und in *E. coli* XL-1 blue transformiert. Eine Selektion auf Plasmid-tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml)-haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht. Das Plasmid wurde isoliert und durch Sequenzierung die erwartete Nukleotidsequenz bestätigt. Die Präparation der Plasmid-DNA wurde nach Methoden und mit Materialien der Firma Qiagen durchgeführt. Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierungsreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet. Das erhaltene Plasmid pCIS lysC ist als SEQ ID NO:69 aufgeführt. Die entsprechende Plasmidkarte ist in Figur 1 dargestellt.

Die Sequenz SEQ ID NO:69 umfasst die folgenden wesentlichen Teilbereiche:

LOCUS pCIS\lysC 5860 bp DNA circular  
FEATURES Location/Qualifiers

CDS<sup>1)</sup> 155..1420  
 /vntifkey="4"  
 /label=lysC  
 CDS complement<sup>2)</sup>(3935..5356)  
 5 /vntifkey="4"  
 /label=sacB\Bacillus\subtilis)  
 promoter complement(5357..5819)  
 /vntifkey="30"  
 /label=Promotor\sacB  
 10 C\_region complement(3913..3934)  
 /vntifkey="2"  
 /label=sacB\downstreambereich  
 CDS 1974..2765  
 /vntifkey="4"  
 15 /label=Kan\R  
 CDS complement(3032..3892)  
 /vntifkey="4"  
 /label=Ori\EC\pMB)

- 20 <sup>1)</sup> kodierende Sequenz  
<sup>2)</sup> auf Komplementärstrang

#### Beispiel 4: Mutagenese des lysC Gens aus *C. glutamicum*

25 Die gerichtete Mutagenese des lysC Gens aus *C. glutamicum* (Beispiel 3) wurde mit dem QuickChange Kit (Fa. Stratagene/USA) nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Die Mutagenese wurde im Plasmid pCIS lysC, SEQ ID NO:69 durchgeführt. Für den Austausch von thr311 nach 311ile mit Hilfe der Quickchange Methode (Stratagene) wurden folgende Oligonukleotidprimer synthetisiert

30 SEQ ID NO:70

5'-CGGCACCAACCGACATCATCTTCACCTGCCCTCGTTCCG -3'

SEQ ID NO:71

5'-CGGAACGAGGGCAGGTGAAGATGATGTCGGTGGTGCCG -3'

35

Der Einsatz dieser Oligonukleotidprimer in der Quickchange Reaktion führt in dem lysC Gen zu einem Austausch des Nukleotids in Position 932 (von C nach T) (vgl. SEQ ID NO:72) und im korrespondierenden Enzym zu einer Aminosäuresubstitution in Position 311 (Thr→Ile) (vgl. SEQ ID NO:73). Der resultierende Aminosäureaustausch Thr311Ile im lysC Gen wurde nach

Transformation in E.coli XL1-blue und Plasmidpräparation durch Sequenzierung bestätigt. Das Plasmid erhielt die Bezeichnung pCIS lysC thr311ile und ist als SEQ ID NO:74 aufgeführt. Die entsprechende Plasmidkarte ist in Figur 2 dargestellt.

5

Die Sequenz SEQ ID NO:74 umfasst die folgenden wesentlichen Teilbereiche:

LOCUS		pCIS\lysC\thr311ile	5860 bp	DNA	circular
FEATURES		Location/Qualifiers			
10	CDS <sup>1)</sup>	155..1420			
		/vntifkey="4"			
		/label=lysC			
	CDS	complement <sup>2)</sup> (3935..5356)			
		/vntifkey="4"			
15		/label=sacB\Bacillus\subtilis)			
	promoter	complement(5357..5819)			
		/vntifkey="30"			
		/label=Promotor\sacB			
	C_region	complement(3913..3934)			
20		/vntifkey="2"			
		/label=sacB\downstreambereich			
	CDS	1974..2765			
		/vntifkey="4"			
		/label=Kan\R			
25	CDS	complement(3032..3892)			
		/vntifkey="4"			
		/label=Ori\EC\pMB)			

<sup>1)</sup> kodierende Sequenz

30 <sup>2)</sup> auf Komplementärstrang

Das Plasmid pCIS lysC thr311ile wurde in C. glutamicum LU1479 mittels Elektroporation wie bei Liebl, et al. (1989) FEMS Microbiology Letters 53:299-303 beschrieben, transformiert. Modifikationen des Protokolls sind in DE-A-10046870 beschrieben. Die chromosomale Anordnung des lysC-Lokus einzelner Transformanten wurde mit Standardmethoden durch Southernblot und Hybridisierung, wie in Sambrook et al. (1989), Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben, überprüft. Dadurch wurde sichergestellt, dass es sich bei den Transformanten um solche handelt, die das transformierte Plasmid durch homologe Rekombination am lysC-Lokus integriert haben. Nach Wachstum solcher Kolonien über Nacht in Medien, die kein Antibiotikum enthielten, wurden die Zellen auf ein Saccharose-CM-Agarmedium (10%

Saccharose) ausplattiert und bei 30°C für 24 Stunden inkubiert.

Da das im Vektor pCIS lysC thr311ile enthaltende sacB Gen Saccharose in ein toxisches Produkt umwandelt, können nur solche Kolonien anwachsen, die das sacB Gen durch einen zweiten homologen Rekombinationsschritt zwischen dem Wildtyp lysC Gen und dem mutierten Gen  
5 lysC thr311ile deletiert haben. Während der homologen Rekombination kann entweder das Wildtyp Gen oder das mutierte Gen zusammen mit dem sacB Gen deletiert werden. Wenn das sacB Gen zusammen mit dem Wildtyp Gen entfernt wird, resultiert eine mutierte Transformante.

Anwachsende Kolonien wurden gepickt, und auf eine Kanamycin-sensitiven Phänotyp hin untersucht. Klone mit deletiertem SacB Gen müssen gleichzeitig Kanamycin-sensitives Wachstumsverhalten zeigen. Solche Kan-sensitiven Klone wurde im einem Schüttelkolben auf ihre Lysin-Produktivität hin untersucht (siehe Beispiel 6). Zum Vergleich wurde der nichtbehandelte Stamm LU1479 angezogen. Klone mit einer gegenüber der Kontrolle erhöhten Lysin-Produktion wurden  
10 selektiert, chromosomale DNA wurde gewonnen und der entsprechende Bereich des lysC Gens wurde durch eine PCR-Reaktion amplifiziert und sequenziert. Ein solcher Klon mit der Eigenschaft erhöhter Lysin-Synthese und nachgewiesener Mutation in lysC an der Stelle 932 wurde mit LU1479 lysC 311ile bezeichnet).

#### Beispiel 5: Herstellung Ethionin-resistenter *C. glutamicum* Stämme

Im zweiten Schritt der Stammkonstruktion wurde der erhaltene Stamm LU1479 lysC 311ile (Beispiel 4) behandelt, um eine Ethionin-Resistenz (Kase, H. Nakayama K.Agr. Biol. Chem. 39 153-106 1975 L-methionine production by methionine analog-resistant mutants of *Corynebacterium glutamicum*) zu induzieren: Eine Übernachtskultur in BHI-Medium (Difco) wurde in Citratpuffer  
25 (50mM pH 5,5) gewaschen und bei 30°C für 20 min mit N-Methyl-nitrosoguanidin (10mg/ml in 50mM Citrat pH5,5) behandelt. Nach der Behandlung mit dem chemischen Mutagen N-Methyl-nitrosoguanidin wurden die Zellen gewaschen (Citratpuffer 50mM pH 5,5) und auf ein Medium plattiert, das aus folgenden Komponenten, berechnet auf 500ml, zusammengesetzt war: 10g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.5g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.125g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 21g MOPS, 50mg CaCl<sub>2</sub>, 15mg  
30 Proteokatechuat, 0,5mg Biotin, 1mg Thiamin, 5g/l D,L-Ethionin (Sigma Chemicals Deutschland), pH 7,0. Außerdem enthielt das Medium 0.5ml einer Spurensalzlösung aus: 10g/l FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1g/l MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0.1g/l ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.02g/l CuSO<sub>4</sub>, 0.002g/l NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, Alle Salze wurden in 0,1M HCl gelöst. Das fertig zusammengestellte Medium wurde sterilfiltriert und nach Zugabe von 40ml steriler 50% Glucoselösung, mit flüssigem sterilem Agar in einer Endkonzentration von  
35 1,5% Agar versetzt und in Kulturschalen ausgegossen.

Auf Platten mit dem beschriebenen Medium wurden mutagenisierte Zellen aufgebracht und 3-7

Tage bei 30°C inkubiert. Erhaltene Klone wurden isoliert, mindestens einmal auf dem Selektionsmedium vereinzelt und dann auf ihre Methionin-Produktivität in einem Schüttelkolben in Medium II untersucht (siehe Beispiel 6)

## 5 Beispiel 6: Herstellung von Methionin mit dem Stamm LU1479 lysC 311ile ET-16.

Die in Beispiel 5 hergestellten Stämme wurden auf einer Agar-Platte mit CM-Medium für 2 Tag bei 30°C angezogen.

### CM-Agar:

- 10 10,0 g/l D-Glucose, 2,5 g/l NaCl, 2,0 g/l Hamstoff, 10,0 g/l Bacto Pepton (Difco), 5,0 g/l Yeast Extract (Difco), 5,0 g/l Beef Extract (Difco), 22,0 g/l Agar (Difco), autoklaviert (20 min., 121°C)

- 15 Anschließend wurden die Zellen von der Platte abgekratzt und in Saline resuspendiert. Für die Hauptkultur wurden 10 ml Medium II und 0,5 g autoklaviertes CaCO<sub>3</sub> (Riedel de Haen) in einem 100 ml Erlenmeyerkolben mit der Zellsuspension bis zu einer OD<sub>600nm</sub> von 1,5 beimpft und für 72h auf einem Orbitalschüttler mit 200 Upm bei 30°C inkubiert.

### Medium II:

- 20 40g/l Saccharose  
60g/l Melasse (auf 100% Zuckergehalt berechnet)  
10g/l (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
0.4g/l MgSO<sub>4</sub>\*7H<sub>2</sub>O  
0.6g/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
25 0.3mg/l Thiamin\*HCl  
1mg/l Biotin (aus einer 1 mg/ml steril filtrierten Stammlösung die mit NH<sub>4</sub>OH auf pH 8,0 eingestellt wurde)  
2mg/l FeSO<sub>4</sub>  
2mg/l MnSO<sub>4</sub>  
30 mit NH<sub>4</sub>OH auf pH 7,8 eingestellt, autoklaviert (121°C, 20 min). Zusätzlich wird Vitamin B12 (Hydroxycobalamin Sigma Chemicals) aus einer Stammlösung (200 µg/ml, steril filtriert) bis zu einer Endkonzentration von 100 µg/l zugegeben

- 35 Gebildetes Methionin, sowie andere Aminosäuren in der Kulturbrühe wurde mit Hilfe der Aminosäuresäure-Bestimmungsmethode von Agilent auf einer Agilent 1100 Series LC System HPLC. Eine Derivatisierung vor der Säulentrennung mit Ortho-Phthalaldehyd erlaubte die Quantifizierung der gebildeten Aminosäuren. Die Auftrennung des Aminosäuregemisch fand auf einer

Hypersil AA-Säule (Agilent) statt.

5 Solche Klone wurden isoliert, deren Methionin-Produktivität mindestens doppelt so hoch war, wie die des Ausgangsstamm LU1479 lysC 311ile. Ein solcher Klon wurde für die weiteren Versuche eingesetzt und bekam die Bezeichnung LU1479 lysC 311ile ET-16.

**Beispiel 7:** Klonierung von metF aus *Corynebacterium diphtheriae* und Klonierung in das Plasmid pC metF\_Cd

10 Chromosomale DNA von *Corynebacterium diphtheriae* wurde von der American Type Strain Culture Collection (ATCC, Atlanta-USA) mit der Bestellnummer 700971D aus dem Stamm ATCC 700971 bezogen.

15 Mit den Oligonukleotidprimer SEQ ID NO:75 und SEQ ID NO:76, der chromosomalen DNA aus *C. diphtheriae* als Template und Pfu Turbo Polymerase (Fa. Stratagene) wurde mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nach Standardmethoden wie Innis et al. (1990) PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press ein DNA Fragment von ca. 1,2 kb amplifiziert, welches das metF Gen inklusive eines nichtkodierenden 5'-Bereiches (Promotorregion) enthält. Das amplifizierte Fragment ist an seinem 5'-Ende von einer XhoI-Restriktionsschnittstelle und am 3'-Ende von einer XbaI-Restriktionsschnittstelle flankiert, welche über die Oligonukleotidprimer eingeführt wurden.

SEQ ID NO:75

5'-GAGACTCGAGGTAGACTTTAAACCCATATTAG-3'

25 und

SEQ ID NO:76

5'-GAAGTCTAGATTAGCGAATAGCGTCGTGG-3'

30 Das erhaltene DNA Fragment wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Im Anschluß daran wurde es mit den Restriktionsenzymen XhoI und XbaI (Roche Diagnostics, Mannheim) gespalten und gelelektrophoretisch aufgetrennt. Anschließend wurde das ca. 1,2 kb große DNA Fragment mit GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) aus der Agarose aufgereinigt.

35

Der Vektor pClik5MCS SEQ ID NO: 65, im folgenden pC genannt, wurde mit den Restriktionsenzymen XhoI und XbaI (Roche Diagnostics, Mannheim) geschnitten und ein ca. 5 kb großes Fragment nach elektrophoretischer Auftrennung mit GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification

Kit isoliert.

- Das Vektorfragment wurde zusammen mit dem PCR-Fragment mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers ligiert und der Ligationssatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.
- 10 Die Präparation der Plasmid DNA wurde nach Methoden und mit Materialien der Fa. Quiagen durchgeführt. Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.
- 15 Das entstandene Plasmid pC metF\_Cd (*Corynebacterium diphtheriae*) ist als SEQ ID NO:77 aufgeführt. Die entsprechende Plasmidkarte ist in Figur 3 dargestellt.

pC\_metF\_Cd 6142 bp DNA circular

- |    |         |                          |
|----|---------|--------------------------|
| 20 | FEATURE | Location/Qualifiers      |
|    | CDS     | 136..1158                |
|    |         | =metF_Coryne\diphtheriae |
|    | CDS     | 1508..2299               |
|    |         | =Kan\R                   |
| 25 | CDS     | 4580..5701               |
|    |         | =Rep\Protein             |
|    | CDS     | 3572..4246               |
|    |         | =ORF1                    |
|    | CDS     | complement(2566..3426)   |
| 30 |         | =Ori\EC\pMB)             |

Beispiel 8: Transformation des Stammes LU1479 lysC 311ile ET-16 mit dem Plasmid pC metF\_Cd

- 35 Der Stamm LU1479 lysC 311ile ET-16 wurde mit dem Plasmid pC metF\_Cd nach der beschriebenen Methode (Liebl, et al. (1989) FEMS Microbiology Letters 53:299-303) transformiert. Die Transformationsmischung wurde auf CM-Platten plattiert, die zusätzlich 20mg/l Kanamycin enthielten, um eine Selektion auf Plasmid-haltige Zellen zu erreichen. Erhaltene Kan-
- 40 resistente Klone wurden gepickt und vereinzelt. Die Methionin-Produktivität der Klone wurde in

einem Schüttelkolbenversuch (s. Beispiel 6) untersucht. Der Stamm LU1479 lysC 311ile ET-16 pC metF\_Cd produzierte im Vergleich zu LU1479 lysC 311ile ET-16 signifikant mehr Methionin.



Patentansprüche

1. Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen  
Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:
  - a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie  
produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen  
Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird,  
welche für ein Protein mit Methylentetrahydrofolat Reduktase (metF) –Aktivität  
kodiert;
  - b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den  
Zellen der Bakterien, und
  - c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die schwefelhaltige Feinchemikalie L-Methionin  
umfasst.
3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei sich die heterologe metF-  
kodierende Nukleotidsequenz zur metF-kodierenden Sequenz aus *Corynebacterium*  
*glutamicum* ATCC 13032 eine Sequenzhomologie vom weniger als 100% aufweist.
4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die metF-kodierende Sequenz aus einem der  
folgenden Organismen abgeleitet ist:

Organismus	Stammsammlung
<i>Corynebacterium diphteriae</i>	ATCC 14779
<i>Streptomyces lividans</i>	ATCC 19844
<i>Streptomyces coelicolor</i>	ATCC 10147
<i>Aquifex aeolicus</i>	DSM 6858
<i>Burkholderia cepacia</i>	ATCC 25416
<i>Nitrosomonas europaea</i>	ATCC 19718
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 17933
<i>Xylella fastidiosa</i>	ATCC 35881
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	ATCC 24969
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 10751
<i>Erwinia carotovora</i>	ATCC 15713
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700721
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 12839
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 15277
<i>Escherichia coli</i> K12	ATCC55151

<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 39315
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 51907
<i>Caulobacter crescentus</i>	ATCC 19089
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	ATCC 33384
<i>Neisseria meningitis</i>	ATCC 6253
<i>Rhodobacter capsulatus</i>	ATCC 11166
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560
<i>Lactococcus lactis</i>	ATCC 7962
<i>Prochlorococcus marinus</i>	PCC7118
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	ATCC 12980

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metF-kodierende Sequenz eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, umfasst.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metF-kodierende Sequenz für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 und 54 oder eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität steht, umfasst.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metF-Sequenz eine in coryneformen Bakterien replizierbare oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA ist.
8. Verfahren gemäß Anspruch 7, wobei man
  - a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metF-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder
  - b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metF-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metF-Sequenz überexprimiert wird.

10. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verstärkt ist oder derart mutiert ist, dass es durch Stoffwechselmetabolite nicht in seiner Aktivität beeinflusst wird.
11. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet ist, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.
12. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter
- a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen *lysC*,
  - b) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen *gap*,
  - c) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen *pgk*,
  - d) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen *pyc*,
  - e) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen *tpi*,
  - f) dem für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierenden Gen *metA*,
  - g) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen *metB*,
  - h) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen *metC*,
  - i) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen *glyA*,
  - j) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierenden Gen *metY*,
  - k) dem für für die Vitamin B12 abhängige Methionin-Synthase kodierende Gen *methH*,
  - l) dem für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierenden Gen *serC*,
  - m) dem für die Phosphoserin-Phosphatase kodierenden Gen *serB*,
  - n) dem für die Serine Acetyl-Transferase kodierenden Gen *cysE*, und
  - o) dem für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierenden Gen *hom*,

überexprimiert oder so mutiert ist, dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden.

13. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneformen Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- a) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen *thrB*,
- b) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen *ilvA*,
- c) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen *thrC*
- d) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen *ddh*
- e) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen *pck*,
- f) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen *pgi*,
- g) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen *poxB*,
- h) dem für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierenden Gen *dapA*,
- i) dem für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierenden Gen *dapB*; oder
- j) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierenden Gen

durch Veränderung der Expressionsrate oder durch Einführung einer gezielten Mutation abgeschwächt ist.

14. Verfahren gemäß einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* einsetzt.

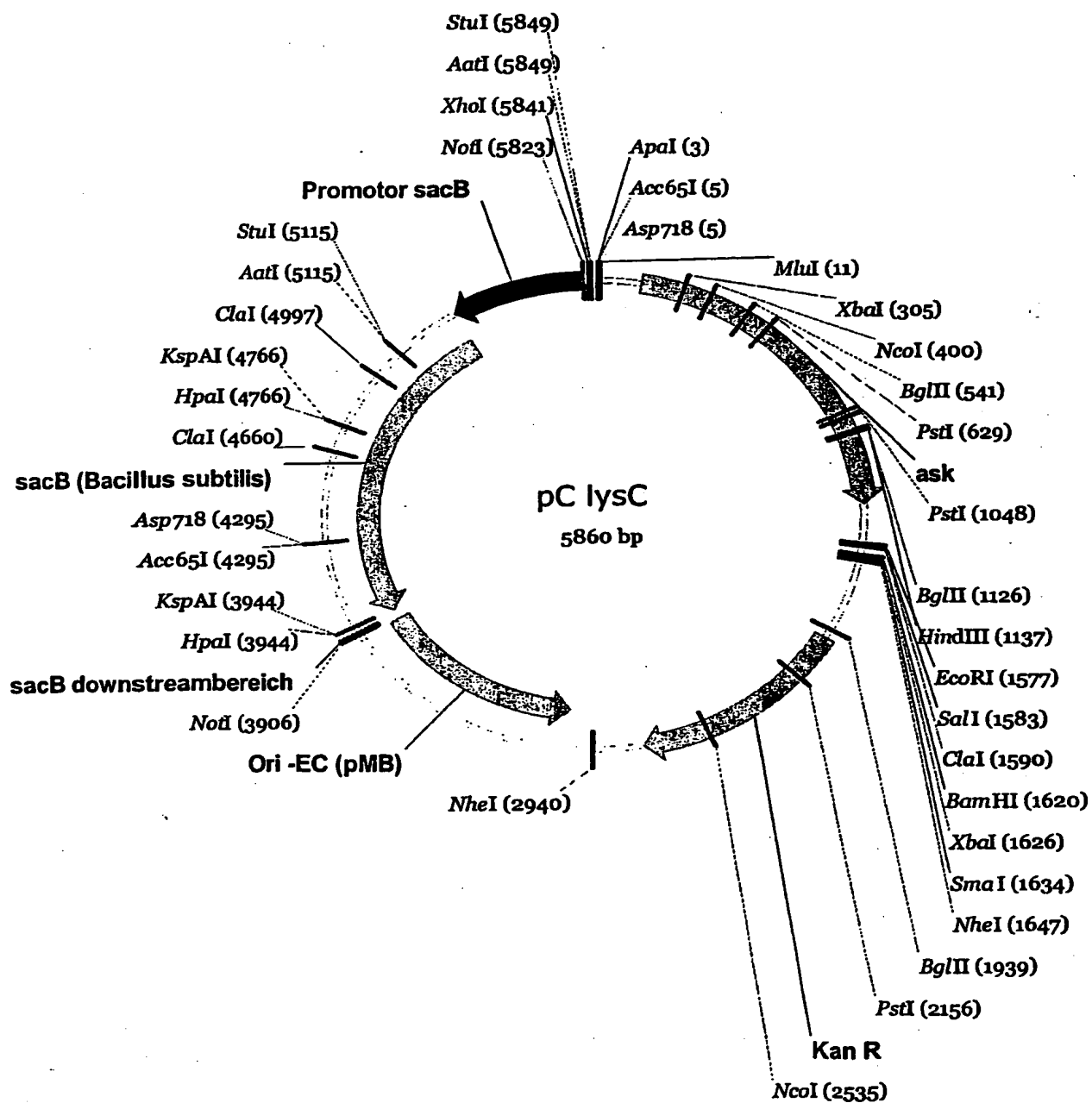
15. Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin haltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst

- a) Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganismus in einem Fermentationsmedium;
- b) Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
- c) Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge von 0 bis 100 Gew.-%; und
- d) Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.

16. Verfahren gemäß Anspruch 15, wobei man Mikroorganismen gemäß der Definition in einem der Ansprüche 1 bis 14 einsetzt.

1/3

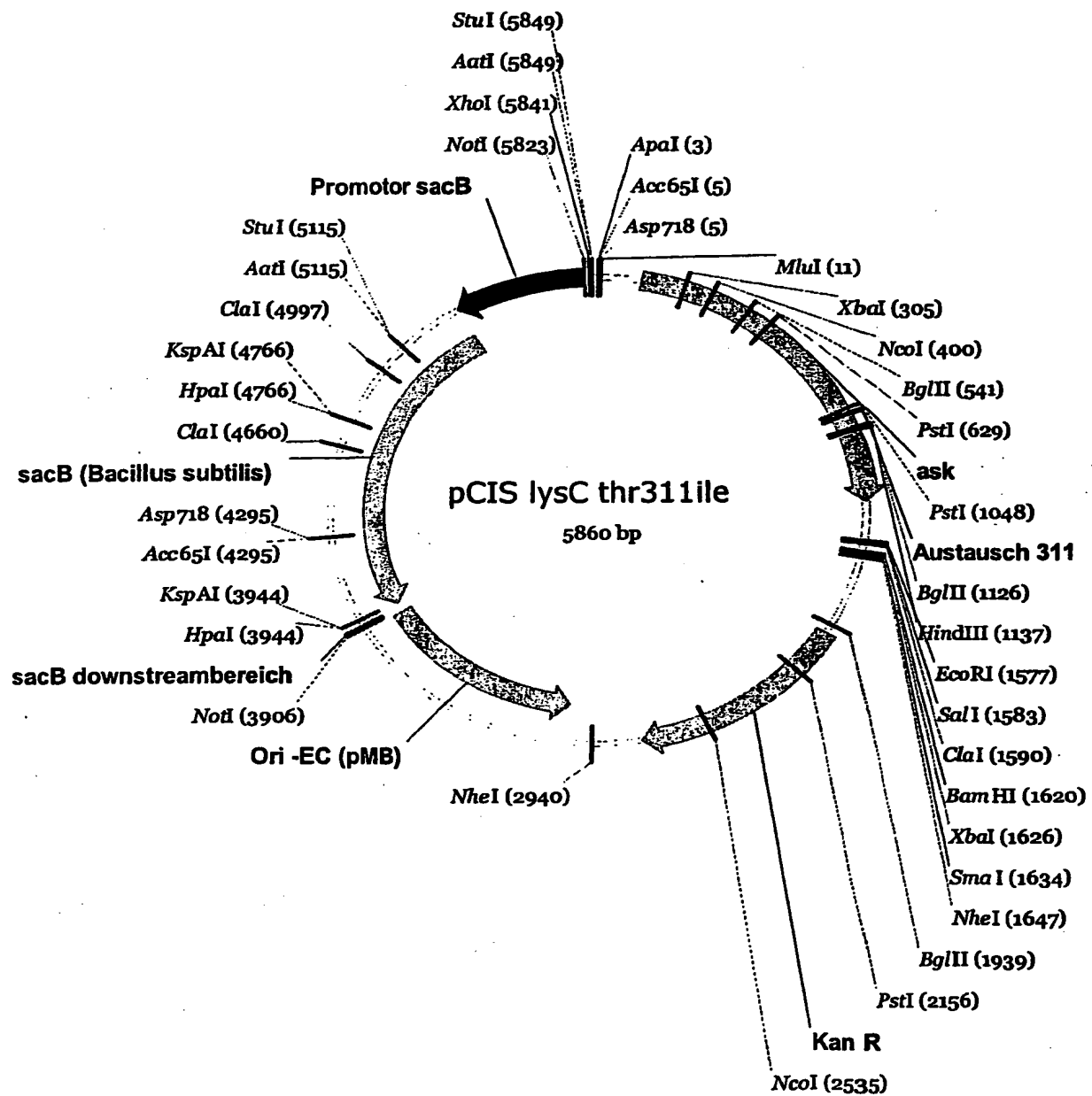
Fig. 1



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

2/3

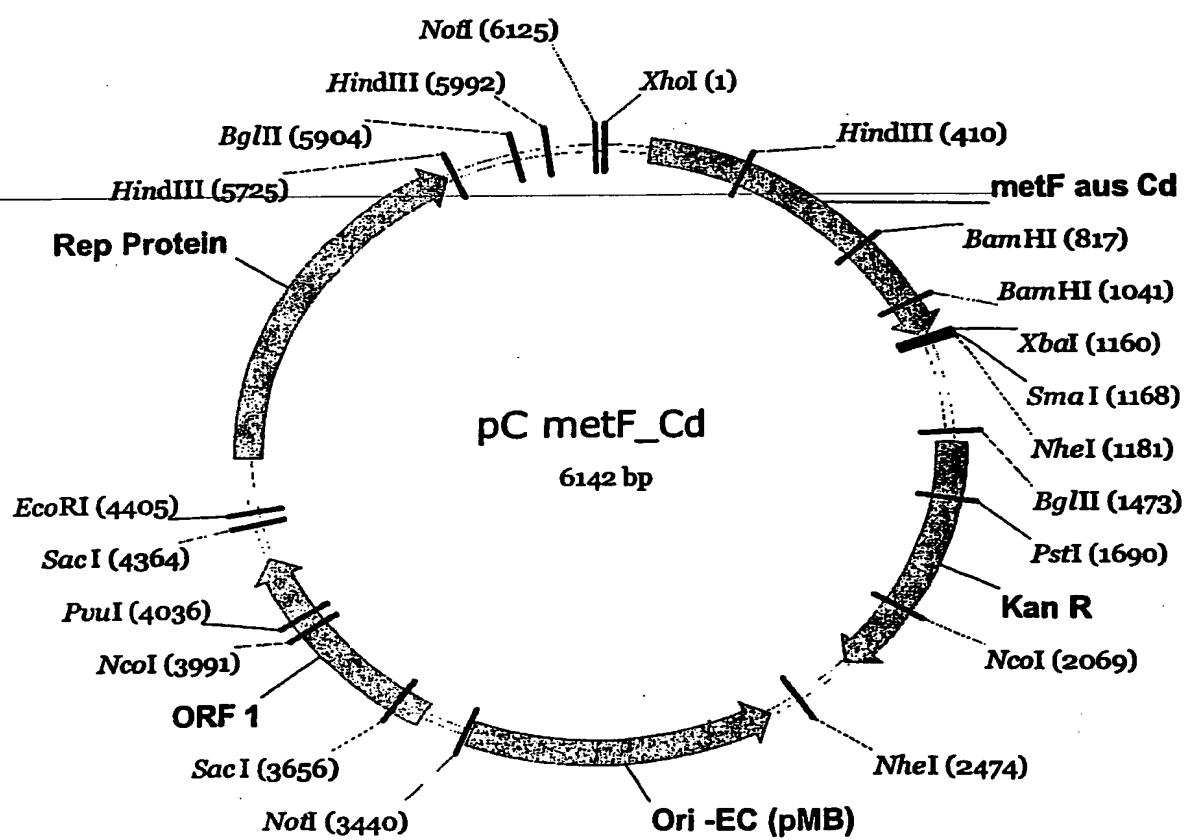
Fig. 2



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



3/3

**Fig. 3**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## SEQUENZPROTOKOLL

&lt;110&gt; BASF Aktiengesellschaft

&lt;120&gt; MetF

&lt;130&gt; M/43126

&lt;140&gt;

&lt;141&gt;

&lt;160&gt; 66

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 984

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; corynebacterium diphteriae

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (981)

&lt;223&gt; RDI01260

&lt;400&gt; 1

atg tct gca caa ccg cta cct gct gcg tat cag cgc aca atc acc gat	48
Met Ser Ala Gln Pro Leu Pro Ala Ala Tyr Gln Arg Thr Ile Thr Asp	
1 5 10 15	
gtc att tcc atg cca aca ccg ggc cag gtt ccg ttt tct gta gag ttt	96
Val Ile Ser Met Pro Thr Pro Gly Gln Val Pro Phe Ser Val Glu Phe	
20 25 30	
atg ccg cca cga gat gag gca gca gaa gag cga ctc tgg aaa gcc gcc	144
Met Pro Pro Arg Asp Glu Ala Ala Glu Glu Arg Leu Trp Lys Ala Ala	
35 40 45	
gaa gca ttt cac gac tta gga gcc tct ttt gtc tcc gtt act tat ggt	192
Glu Ala Phe His Asp Leu Gly Ala Ser Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly	
50 55 60	
gca ggc gga tct agc cgc gag cgc aca atg cgt gtc gcg cac aag ctt	240
Ala Gly Gly Ser Ser Arg Glu Arg Thr Met Arg Val Ala His Lys Leu	
65 70 75 80	
tct cgt cat ccg ttg acc acg ctc gtt cat ctc acg ctt gtg gaa cac	288
Ser Arg His Pro Leu Thr Thr Leu Val His Leu Thr Leu Val Glu His	
85 90 95	
acc caa gaa gaa tta gaa gaa att ctg tgc act tat gcg tcc cac ggg	336
Thr Gln Glu Glu Leu Glu Glu Ile Leu Cys Thr Tyr Ala Ser His Gly	
100 105 110	
ttg tct aac tta ctt gcc ttg cga ggc gat ccc cct ggc act gac ccg	384
Leu Ser Asn Leu Leu Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Gly Thr Asp Pro	
115 120 125	
atg gct ccg tgg gtc cct acc gca ggc ggc cta gat tat gcc aaa gat	432
Met Ala Pro Trp Val Pro Thr Ala Gly Gly Leu Asp Tyr Ala Lys Asp	
130 135 140	
ttg atc gac ctc gtg cgc aag act gag cag acc tcg cac ttt cag gta	480

Leu Ile Asp Leu Val Arg Lys Thr Glu Gln Thr Ser His Phe Gln Val  
 145 150 155 160  
 gga att gct agt ttc cca gaa ggg cac tac cga gcg cct agc att gag 528  
 Gly Ile Ala Ser Phe Pro Glu Gly His Tyr Arg Ala Pro Ser Ile Glu  
 165 170 175  
 gcg gat acg caa ttt aca ttg gaa aag ctg cga gct ggc gca gag ttt 576  
 Ala Asp Thr Gln Phe Thr Leu Glu Lys Leu Arg Ala Gly Ala Glu Phe  
 180 185 190  
 tcg att acc cag atg ttt ttt gat gtc gat cac tat tta cga ctg cga 624  
 Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Asp Val Asp His Tyr Leu Arg Leu Arg  
 195 200 205  
 gat cgc ttg gtt aag gcg gat cct gaa cat gga tca aag ccg atc atc 672  
 Asp Arg Leu Val Lys Ala Asp Pro Glu His Gly Ser Lys Pro Ile Ile  
 210 215 220  
 cca gga ctt atg ccc att acc agc ttg agg tcg gtt cgt agg cag atg 720  
 Pro Gly Leu Met Pro Ile Thr Ser Leu Arg Ser Val Arg Arg Gln Met  
 225 230 235 240  
 gaa tta gca ggt gcc acc ttg cct aag gct tta gaa aaa cgg ctt ctc 768  
 Glu Leu Ala Gly Ala Thr Leu Pro Lys Ala Leu Glu Lys Arg Leu Leu  
 245 250 255  
 gac gca gcg cgc ggc gat gag gaa gct cat cgc ggc gat att cgc aaa 816  
 Asp Ala Ala Arg Gly Asp Glu Glu Ala His Arg Gly Asp Ile Arg Lys  
 260 265 270  
 gta gga atc gaa gtc act act gag atg gca cag cgt ctt att tct gaa 864  
 Val Gly Ile Glu Val Thr Thr Glu Met Ala Gln Arg Leu Ile Ser Glu  
 275 280 285  
 ggg atc cca gac atc cat ttc atg acc atg aat tat gtt cga gcg acc 912  
 Gly Ile Pro Asp Ile His Phe Met Thr Met Asn Tyr Val Arg Ala Thr  
 290 295 300  
 caa gaa gta ctc cat aat ctc ggc atg gcg ccc gcg tgg gga aca cag 960  
 Gln Glu Val Leu His Asn Leu Gly Met Ala Pro Ala Trp Gly Thr Gln  
 305 310 315 320  
 caa ggc cac gac gct att cgc taa 984  
 Gln Gly His Asp Ala Ile Arg  
 325  
 <210> 2  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> corynebacterium diptheriae  
 <400> 2  
 Met Ser Ala Gln Pro Leu Pro Ala Ala Tyr Gln Arg Thr Ile Thr Asp  
 1 5 10 15  
 Val Ile Ser Met Pro Thr Pro Gly Gln Val Pro Phe Ser Val Glu Phe  
 20 25 30  
 Met Pro Pro Arg Asp Glu Ala Ala Glu Glu Arg Leu Trp Lys Ala Ala

35	40	45
Glu Ala Phe His Asp Leu Gly Ala Ser Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly		
50	55	60
Ala Gly Gly Ser Ser Arg Glu Arg Thr Met Arg Val Ala His Lys Leu		
65	70	75
Ser Arg His Pro Leu Thr Thr Leu Val His Leu Thr Leu Val Glu His		
	85	90
Thr Gln Glu Glu Leu Glu Glu Ile Leu Cys Thr Tyr Ala Ser His Gly		
	100	105
Leu Ser Asn Leu Leu Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Gly Thr Asp Pro		
	115	120
Met Ala Pro Trp Val Pro Thr Ala Gly Gly Leu Asp Tyr Ala Lys Asp		
	130	135
Leu Ile Asp Leu Val Arg Lys Thr Glu Gln Thr Ser His Phe Gln Val		
	145	150
Gly Ile Ala Ser Phe Pro Glu Gly His Tyr Arg Ala Pro Ser Ile Glu		
	165	170
Ala Asp Thr Gln Phe Thr Leu Glu Lys Leu Arg Ala Gly Ala Glu Phe		
	180	185
Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Asp Val Asp His Tyr Leu Arg Leu Arg		
	195	200
Asp Arg Leu Val Lys Ala Asp Pro Glu His Gly Ser Lys Pro Ile Ile		
	210	215
Pro Gly Leu Met Pro Ile Thr Ser Leu Arg Ser Val Arg Arg Gln Met		
	225	230
Glu Leu Ala Gly Ala Thr Leu Pro Lys Ala Leu Glu Lys Arg Leu Leu		
	245	250
Asp Ala Ala Arg Gly Asp Glu Glu Ala His Arg Gly Asp Ile Arg Lys		
	260	265
Val Gly Ile Glu Val Thr Thr Glu Met Ala Gln Arg Leu Ile Ser Glu		
	275	280
Gly Ile Pro Asp Ile His Phe Met Thr Met Asn Tyr Val Arg Ala Thr		
	290	295
Gln Glu Val Leu His Asn Leu Gly Met Ala Pro Ala Trp Gly Thr Gln		
	305	310
Gln Gly His Asp Ala Ile Arg		
	325	

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 924

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Streptomyces lividans

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(921)

&lt;223&gt; RSV00084

&lt;400&gt; 3

atg gcc ctc gga acc gca agc acg agg acg gat cgc gcc cgc acg gtg	48
Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val	
1 5 10 15	
cgt gac atc ctc gcc acc ggc aag acg acg tac tcg ttc gag ttc tcg	96
Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser	
20 25 30	
gcg ccg aag acg ccc aag ggc gag aag aac ctc tgg agc gcg ctg cgg	144
Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Lys Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg	
35 40 45	
cgg gtc gag gcc gtg gcc ccg gac ttc gtc tcc gtg acc tac ggc gcc	192
Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala	
50 55 60	
ggc ggc tcc acg cgc gcc ggc acg gtc cgc gag acc cag cag atc gtc	240
Gly Gly Ser Thr Arg Ala Gly Thr Val Arg Glu Thr Gln Gln Ile Val	
65 70 75 80	
gcc gac acc acg ctg acc ccg gtg gcc cac ctc acc gcc gtc gac cac	288
Ala Asp Thr Thr Leu Thr Pro Val Ala His Leu Thr Ala Val Asp His	
85 90 95	
tcc gtc gcc gag ctg cgc aac atc atc ggc cag tac gcc gac gcc ggg	336
Ser Val Ala Glu Leu Arg Asn Ile Ile Gly Gln Tyr Ala Asp Ala Gly	
100 105 110	
atc cgc aac atg ctg gcc gtg cgc ggc gac ccg ccc ggc gac ccg aac	384
Ile Arg Asn Met Leu Ala Val Arg Gly Asp Pro Pro Gly Asp Pro Asn	
115 120 125	
gcc gac tgg atc gcg cac ccc gag ggc ctg acc tac gcg gcc gaa ctg	432
Ala Asp Trp Ile Ala His Pro Glu Gly Leu Thr Tyr Ala Ala Glu Leu	
130 135 140	
gtc agg ctc atc aag gag tcg gga gac ttc tgc gtc ggc gtc gcc gcc	480
Val Arg Leu Ile Lys Glu Ser Gly Asp Phe Cys Val Gly Val Ala Ala	
145 150 155 160	
ttc ccc gag atg cac ccg cgc tcc gcc gac tgg gac acg gac gtc acg	528
Phe Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr	
165 170 175	
aac ttc gtc gac aag tgc cgg gcc ggc gcc gac tac gcc atc acc cag	576
Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln	
180 185 190	
atg ttc ttc cag ccc gac tcc tac ctc cgg ctg cgc gac cgg gtc gcc	624
Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala	
195 200 205	
gcg gcc ggc tgc gcg acc ccg gtc att ccc gag gtc atg ccg gtg acc	672
Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr	

210	215	220	
agt gtg aag atg ctg gag agg ttg ccg aag ctc agc aac gcc tcg ttc			720
Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe			
225	230	235	240
ccg gcg gag ctg aaa gag cgg atc ctc aca gcc aag gac gat ccg gcg			768
Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala			
	245	250	255
gct gta cgc tcg atc ggc atc gag ttc gcc acg gag ttc tgc gcg cgg			816
Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg			
	260	265	270
ctg ctg gcc gag gga gtg cca gga ctg cac ttc atc acg ctc aac aac			864
Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn			
	275	280	285
tcc acg gcg acg ctg gaa atc tac gag aac ctg ggc ctg cac cac cca			912
Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro			
	290	295	300
ccg cgg gcc tag			924
Pro Arg Ala			
305			

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 307

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Streptomyces lividans

&lt;400&gt; 4

Met	Ala	Leu	Gly	Thr	Ala	Ser	Thr	Arg	Thr	Asp	Arg	Ala	Arg	Thr	Val
1				5					10					15	

Arg	Asp	Ile	Leu	Ala	Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Tyr	Ser	Phe	Glu	Phe	Ser
		20						25					30		

Ala	Pro	Lys	Thr	Pro	Lys	Gly	Glu	Lys	Asn	Leu	Trp	Ser	Ala	Leu	Arg
		35					40					45			

Arg	Val	Glu	Ala	Val	Ala	Pro	Asp	Phe	Val	Ser	Val	Thr	Tyr	Gly	Ala
	50					55					60				

Gly	Gly	Ser	Thr	Arg	Ala	Gly	Thr	Val	Arg	Glu	Thr	Gln	Gln	Ile	Val
65					70					75				80	

Ala	Asp	Thr	Thr	Leu	Thr	Pro	Val	Ala	His	Leu	Thr	Ala	Val	Asp	His
				85					90					95	

Ser	Val	Ala	Glu	Leu	Arg	Asn	Ile	Ile	Gly	Gln	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly
		100					105					110			

Ile	Arg	Asn	Met	Leu	Ala	Val	Arg	Gly	Asp	Pro	Pro	Gly	Asp	Pro	Asn
		115					120					125			

Ala	Asp	Trp	Ile	Ala	His	Pro	Glu	Gly	Leu	Thr	Tyr	Ala	Ala	Glu	Leu
		130				135					140				

Val	Arg	Leu	Ile	Lys	Glu	Ser	Gly	Asp	Phe	Cys	Val	Gly	Val	Ala	Ala
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

145	150	155	160
Phe Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr	165	170	175
Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln	180	185	190
Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala	195	200	205
Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr	210	215	220
Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe	225	230	235
Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala	245	250	255
Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg	260	265	270
Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn	275	280	285
Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro	290	295	300
Pro Arg Ala	305		
<210> 5			
<211> 924			
<212> DNA			
<213> Streptomyces coelicolor			
<220>			
<221> CDS			
<222> (1) .. (921)			
<223> RSX01699			
<400> 5			
atg gcc ctc gga acc gca agc acg agg acg gat cgc gcc cgc acg gtg			48
Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val	1	5	10
cgt gac atc ctc gcc acc ggc aag acg acg tac tcg ttc gag ttc tcg			96
Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser	20	25	30
gcg ccg aag acg ccc aag ggc gag agg aac ctc tgg agc gcg ctg cgg			144
Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Arg Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg	35	40	45
cgg gtc gag gcc gtg gcc ccg gac ttc gtc tcc gtg acc tac ggc gcc			192
Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala	50	55	60
ggc ggc tcc acg cgc gcc ggc acg gtc cgc gag acc cag cag atc gtc			240



Gly	Gly	Ser	Thr	Arg	Ala	Gly	Thr	Val	Arg	Glu	Thr	Gln	Gln	Ile	Val	
65					70					75					80	
gcc	gac	acc	acg	ctg	acc	ccg	gtg	gcc	cac	ctc	acc	gcc	gtc	gac	cac	288
Ala	Asp	Thr	Thr	Leu	Thr	Pro	Val	Ala	His	Leu	Thr	Ala	Val	Asp	His	
				85					90					95		
tcc	gtc	gcc	gag	ctg	cgc	aac	atc	atc	ggc	cag	tac	gcc	gac	gcc	ggg	336
Ser	Val	Ala	Glu	Leu	Arg	Asn	Ile	Ile	Gly	Gln	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly	
			100					105					110			
atc	cgc	aac	atg	ctg	gcc	gtg	cgc	ggc	gac	ccg	ccc	ggc	gac	ccg	aac	384
Ile	Arg	Asn	Met	Leu	Ala	Val	Arg	Gly	Asp	Pro	Pro	Gly	Asp	Pro	Asn	
		115						120				125				
gcc	gac	tgg	atc	gcg	cac	ccc	gag	ggc	ctg	acc	tac	gcg	gcc	gaa	ctg	432
Ala	Asp	Trp	Ile	Ala	His	Pro	Glu	Gly	Leu	Thr	Tyr	Ala	Ala	Glu	Leu	
		130				135					140					
gtc	agg	ctc	atc	aag	gag	tgc	ggc	gac	ttc	tgc	gtc	ggc	gtc	gcg	gcc	480
Val	Arg	Leu	Ile	Lys	Glu	Ser	Gly	Asp	Phe	Cys	Val	Gly	Val	Ala	Ala	
					150					155					160	
ttc	ccc	gag	atg	cac	ccg	cgc	tcc	gcc	gac	tgg	gac	acg	gac	gtc	acg	528
Phe	Pro	Glu	Met	His	Pro	Arg	Ser	Ala	Asp	Trp	Asp	Thr	Asp	Val	Thr	
				165					170					175		
aac	ttc	gtc	gac	aag	tgc	cgc	gcc	ggc	gcc	gac	tac	gcc	atc	acc	cag	576
Asn	Phe	Val	Asp	Lys	Cys	Arg	Ala	Gly	Ala	Asp	Tyr	Ala	Ile	Thr	Gln	
			180					185					190			
atg	ttc	ttc	cag	ccc	gac	tcc	tat	ctc	cgc	ctg	cgc	gac	cgc	gtc	gcc	624
Met	Phe	Phe	Gln	Pro	Asp	Ser	Tyr	Leu	Arg	Leu	Arg	Asp	Arg	Val	Ala	
			195				200					205				
gcg	gcc	ggc	tgc	gcg	acc	ccg	gtc	atc	ccc	gag	gtc	atg	ccg	gtg	acc	672
Ala	Ala	Gly	Cys	Ala	Thr	Pro	Val	Ile	Pro	Glu	Val	Met	Pro	Val	Thr	
		210				215					220					
agt	gtg	aag	atg	ctg	gag	agg	ttg	ccg	aag	ctc	agc	aac	gcc	tgc	ttc	720
Ser	Val	Lys	Met	Leu	Glu	Arg	Leu	Pro	Lys	Leu	Ser	Asn	Ala	Ser	Phe	
225					230					235					240	
ccg	gcg	gag	ttg	aaa	gag	cgc	atc	ctc	aca	gcc	aag	gac	gat	ccg	gcg	768
Pro	Ala	Glu	Leu	Lys	Glu	Arg	Ile	Leu	Thr	Ala	Lys	Asp	Asp	Pro	Ala	
				245					250					255		
gct	gta	cgc	tgc	atc	ggc	atc	gag	ttc	gcc	acg	gag	ttc	tgc	gcg	cgc	816
Ala	Val	Arg	Ser	Ile	Gly	Ile	Glu	Phe	Ala	Thr	Glu	Phe	Cys	Ala	Arg	
			260													

Pro Arg Ala  
305

<210> 6  
<211> 307  
<212> PRT  
<213> Streptomyces coelicolor

<400> 6

Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val  
1 5 10 15

Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser  
20 25 30

Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Arg Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg  
35 40 45

Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala  
50 55 60

Gly Gly Ser Thr Arg Ala Gly Thr Val Arg Glu Thr Gln Gln Ile Val  
65 70 75 80

Ala Asp Thr Thr Leu Thr Pro Val Ala His Leu Thr Ala Val Asp His  
85 90 95

Ser Val Ala Glu Leu Arg Asn Ile Ile Gly Gln Tyr Ala Asp Ala Gly  
100 105 110

Ile Arg Asn Met Leu Ala Val Arg Gly Asp Pro Pro Gly Asp Pro Asn  
115 120 125

Ala Asp Trp Ile Ala His Pro Glu Gly Leu Thr Tyr Ala Ala Glu Leu  
130 135 140

Val Arg Leu Ile Lys Glu Ser Gly Asp Phe Cys Val Gly Val Ala Ala  
145 150 155 160

Phe Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr  
165 170 175

Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln  
180 185 190

Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala  
195 200 205

Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr  
210 215 220

Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe  
225 230 235 240

Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala  
245 250 255

Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg  
260 265 270

Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn  
 275 280 285

Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro  
 290 295 300

Pro Arg Ala  
 305

<210> 7  
 <211> 891  
 <212> DNA  
 <213> Aquifex aeolicus

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(888)  
 <223> RAA00346

<400> 7  
 atg aaa ata gga gat ata ctg agg aaa gga gtt ttc agt att tct ttt 48  
 Met Lys Ile Gly Asp Ile Leu Arg Lys Gly Val Phe Ser Ile Ser Phe  
 1 5 10 15  
 gag ttc ttt cca ccg aag act gaa gag gga gaa aga cag ctc ttt gaa 96  
 Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Glu Glu Gly Glu Arg Gln Leu Phe Glu  
 20 25 30  
 act ata agg aaa ctt gag aaa tta aat cct act ttt gta tcc gtt act 144  
 Thr Ile Arg Lys Leu Glu Lys Leu Asn Pro Thr Phe Val Ser Val Thr  
 35 40 45  
 tac ggg gca ggt ggt tcg act aga gat aga act agg aat ata gta cag 192  
 Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Arg Asn Ile Val Gln  
 50 55 60  
 aaa ata cac gag gaa act aac ctc acc gtt atg gca cac ctc acc tgt 240  
 Lys Ile His Glu Glu Thr Asn Leu Thr Val Met Ala His Leu Thr Cys  
 65 70 75 80  
 ata gca cac acg aga gag gag ctt att gat atc ctt caa gat tac aaa 288  
 Ile Ala His Thr Arg Glu Glu Leu Ile Asp Ile Leu Gln Asp Tyr Lys  
 85 90 95  
 aac ata ggt ata gag aac att ctc gct ttg agg ggg gac gtt ccg agg 336  
 Asn Ile Gly Ile Glu Asn Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Val Pro Arg  
 100 105 110  
 gac aaa ccg gac tgg aga ccg ccg aag ggt gcg tgc aag tat gca aaa 384  
 Asp Lys Pro Asp Trp Arg Pro Lys Gly Ala Cys Lys Tyr Ala Lys  
 115 120 125  
 gag ctc gta gaa ctg atc agg aag gag ttc gga gac tgg ttt tct atc 432  
 Glu Leu Val Glu Leu Ile Arg Lys Glu Phe Gly Asp Trp Phe Ser Ile  
 130 135 140  
 gga gtg gct tct tat cct gaa gga cat ccg gaa tca ccg aac ctc gag 480  
 Gly Val Ala Ser Tyr Pro Glu Gly His Pro Glu Ser Pro Asn Leu Glu  
 145 150 155 160

tgg gaa gtg aag tac ttt aag gaa aag gta gag gca ggt gca gac ttc 528  
 Trp Glu Val Lys Tyr Phe Lys Glu Lys Val Glu Ala Gly Ala Asp Phe  
 165 170 175

tcg att act cag atg ttt ttc gtg aac gat tac tac tac agg ttt gtg 576  
 Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Val Asn Asp Tyr Tyr Tyr Arg Phe Val  
 180 185 190

gaa atg tgc aaa aat gca ggg ata gat ata tct ata att ccg gga att 624  
 Glu Met Cys Lys Asn Ala Gly Ile Asp Ile Ser Ile Ile Pro Gly Ile  
 195 200 205

atg cct att act aac ttc aaa cag ata aga aag ttt gct tct ctt tgc 672  
 Met Pro Ile Thr Asn Phe Lys Gln Ile Arg Lys Phe Ala Ser Leu Cys  
 210 215 220

gga gcg acg att cca cag agt ctt ata gaa aag ctt gaa aaa gtg gag 720  
 Gly Ala Thr Ile Pro Gln Ser Leu Ile Glu Lys Leu Glu Lys Val Glu  
 225 230 235 240

gat aaa ccg gaa gaa gta aaa aag ata ggg att gag ttt gcc ata aat 768  
 Asp Lys Pro Glu Glu Val Lys Lys Ile Gly Ile Glu Phe Ala Ile Asn  
 245 250 255

cag tgt ttg gat ctc ata gaa cac gga gtt ccg ggg ctt cac ttc tac 816  
 Gln Cys Leu Asp Leu Ile Glu His Gly Val Pro Gly Leu His Phe Tyr  
 260 265 270

act ctg aac aag tcc gac gca act ttg aag ata tac gag gct ata aag 864  
 Thr Leu Asn Lys Ser Asp Ala Thr Leu Lys Ile Tyr Glu Ala Ile Lys  
 275 280 285

gat aaa ata ccg gcc cgt tca act taa 891  
 Asp Lys Ile Pro Ala Arg Ser Thr  
 290 295

<210> 8  
 <211> 296  
 <212> PRT  
 <213> Aquifex aeolicus

<400> 8  
 Met Lys Ile Gly Asp Ile Leu Arg Lys Gly Val Phe Ser Ile Ser Phe  
 1 5 10 15  
 Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Glu Glu Gly Glu Arg Gln Leu Phe Glu  
 20 25 30  
 Thr Ile Arg Lys Leu Glu Lys Leu Asn Pro Thr Phe Val Ser Val Thr  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Arg Asn Ile Val Gln  
 50 55 60  
 Lys Ile His Glu Glu Thr Asn Leu Thr Val Met Ala His Leu Thr Cys  
 65 70 75 80  
 Ile Ala His Thr Arg Glu Glu Leu Ile Asp Ile Leu Gln Asp Tyr Lys  
 85 90 95

Asn Ile Gly Ile Glu Asn Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Val Pro Arg  
 100 105 110  
 Asp Lys Pro Asp Trp Arg Pro Pro Lys Gly Ala Cys Lys Tyr Ala Lys  
 115 120 125  
 Glu Leu Val Glu Leu Ile Arg Lys Glu Phe Gly Asp Trp Phe Ser Ile  
 130 135 140  
 Gly Val Ala Ser Tyr Pro Glu Gly His Pro Glu Ser Pro Asn Leu Glu  
 145 150 155 160  
 Trp Glu Val Lys Tyr Phe Lys Glu Lys Val Glu Ala Gly Ala Asp Phe  
 165 170 175  
 Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Val Asn Asp Tyr Tyr Tyr Arg Phe Val  
 180 185 190  
 Glu Met Cys Lys Asn Ala Gly Ile Asp Ile Ser Ile Ile Pro Gly Ile  
 195 200 205  
 Met Pro Ile Thr Asn Phe Lys Gln Ile Arg Lys Phe Ala Ser Leu Cys  
 210 215 220  
 Gly Ala Thr Ile Pro Gln Ser Leu Ile Glu Lys Leu Glu Lys Val Glu  
 225 230 235 240  
 Asp Lys Pro Glu Glu Val Lys Lys Ile Gly Ile Glu Phe Ala Ile Asn  
 245 250 255  
 Gln Cys Leu Asp Leu Ile Glu His Gly Val Pro Gly Leu His Phe Tyr  
 260 265 270  
 Thr Leu Asn Lys Ser Asp Ala Thr Leu Lys Ile Tyr Glu Ala Ile Lys  
 275 280 285  
 Asp Lys Ile Pro Ala Arg Ser Thr  
 290 295

<210> 9  
 <211> 831  
 <212> DNA  
 <213> Burkholderia cepacia

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(828)  
 <223> RBU14992

<400> 9  
 atg aac ccg atc gaa ctt tca ttc gaa ttc ttc ccg ccg aaa acg cag 48  
 Met Asn Pro Ile Glu Leu Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Gln  
 1 5 10 15  
 gaa ggc gtg gac aag ctg cgc gcc acg cgc gcc cag ctc gcc acg ctc 96  
 Glu Gly Val Asp Lys Leu Arg Ala Thr Arg Ala Gln Leu Ala Thr Leu  
 20 25 30  
 aag ccc aag ttc gtg tcc gtc acg ttc ggc gcc ggc ggc tcg acg caa 144

Lys	Pro	Lys	Phe	Val	Ser	Val	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Gly	Ser	Thr	Gln		
	35						40					45					
cag	ggc	acg	ctc	gac	acc	gtc	gtc	gat	atg	gcg	aag	gaa	ggg	ctc	gaa	192	
Gln	Gly	Thr	Leu	Asp	Thr	Val	Val	Asp	Met	Ala	Lys	Glu	Gly	Leu	Glu		
	50					55					60						
gcg	gcg	ccg	cac	gtg	tgc	tgc	atc	ggc	tgc	tgc	aaa	gag	agc	ctg	cgc	240	
Ala	Ala	Pro	His	Val	Ser	Cys	Ile	Gly	Ser	Ser	Lys	Glu	Ser	Leu	Arg		
	65				70				75						80		
gcc	att	ctc	aac	gag	tac	cgc	gca	cat	ggc	atc	cgc	cat	atc	gtc	gcg	288	
Ala	Ile	Leu	Asn	Glu	Tyr	Arg	Ala	His	Gly	Ile	Arg	His	Ile	Val	Ala		
			85						90					95			
ctg	cgc	ggc	gat	ctg	ccg	tcc	ggc	atg	ggc	gaa	gtc	ggc	gag	ctg	cgc	336	
Leu	Arg	Gly	Asp	Leu	Pro	Ser	Gly	Met	Gly	Glu	Val	Gly	Glu	Leu	Arg		
		100					105					110					
tat	gcg	tgc	gaa	ctg	gtg	agc	ttt	atc	cgc	gcc	gaa	ttc	ggc	gac	tgg	384	
Tyr	Ala	Ser	Glu	Leu	Val	Ser	Phe	Ile	Arg	Ala	Glu	Phe	Gly	Asp	Trp		
	115					120						125					
ttc	tgc	atc	gag	gtg	gcc	ggc	tat	ccg	gaa	tac	cac	ccg	cag	tgc	cgc	432	
Phe	Cys	Ile	Glu	Val	Ala	Gly	Tyr	Pro	Glu	Tyr	His	Pro	Gln	Ser	Arg		
	130					135					140						
tgc	ccg	cgt	cag	gat	ctg	gaa	aac	ttc	gcc	cgc	aag	gtg	aag	gcc	ggc	480	
Ser	Pro	Arg	Gln	Asp	Leu	Glu	Asn	Phe	Ala	Arg	Lys	Val	Lys	Ala	Gly		
	145				150					155					160		
gcc	aat	tgc	gcg	atc	aca	cag	tac	ttc	ttc	aat	gca	gac	gcg	tat	ttc	528	
Ala	Asn	Ser	Ala	Ile	Thr	Gln	Tyr	Phe	Phe	Asn	Ala	Asp	Ala	Tyr	Phe		
				165					170					175			
cgt	ttc	gtc	gac	gac	gcg	aga	aag	ctc	ggc	gtg	gac	gtg	ccg	atc	gtg	576	
Arg	Phe	Val	Asp	Asp	Ala	Arg	Lys	Leu	Gly	Val	Asp	Val	Pro	Ile	Val		
			180					185					190				
ccg	ggc	atc	atg	ccg	atc	acg	aac	ttc	tgc	cag	ctg	atg	cgt	ttc	tgc	624	
Pro	Gly	Ile	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Phe	Ser	Gln	Leu	Met	Arg	Phe	Ser		
	195						200					205					
gag	atg	tgc	ggc	gct	gaa	gtg	cca	cgc	tgg	atc	gcg	cgc	cgg	ctg	gaa	672	
Glu	Met	Cys	Gly	Ala	Glu	Val	Pro	Arg	Trp	Ile	Ala	Arg	Arg	Leu	Glu		
	210					215					220						
agc	ttc	ggc	gac	gat	cgc	gag	tca	att	cgc	gcg	ttc	ggg	ctg	gat	gtg	720	
Ser	Phe	Gly	Asp	Asp	Arg	Glu	Ser	Ile	Arg	Ala	Phe	Gly	Leu				

Arg Leu Asn Val  
275

<210> 10  
<211> 276  
<212> PRT  
<213> Burkholderia cepacia

<400> 10  
Met Asn Pro Ile Glu Leu Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Gln  
1 5 10 15  
Glu Gly Val Asp Lys Leu Arg Ala Thr Arg Ala Gln Leu Ala Thr Leu  
20 25 30  
Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Gln  
35 40 45  
Gln Gly Thr Leu Asp Thr Val Val Asp Met Ala Lys Glu Gly Leu Glu  
50 55 60  
Ala Ala Pro His Val Ser Cys Ile Gly Ser Ser Lys Glu Ser Leu Arg  
65 70 75 80  
Ala Ile Leu Asn Glu Tyr Arg Ala His Gly Ile Arg His Ile Val Ala  
85 90 95  
Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly Glu Val Gly Glu Leu Arg  
100 105 110  
Tyr Ala Ser Glu Leu Val Ser Phe Ile Arg Ala Glu Phe Gly Asp Trp  
115 120 125  
Phe Cys Ile Glu Val Ala Gly Tyr Pro Glu Tyr His Pro Gln Ser Arg  
130 135 140  
Ser Pro Arg Gln Asp Leu Glu Asn Phe Ala Arg Lys Val Lys Ala Gly  
145 150 155 160  
Ala Asn Ser Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe  
165 170 175  
Arg Phe Val Asp Asp Ala Arg Lys Leu Gly Val Asp Val Pro Ile Val  
180 185 190  
Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Phe Ser Gln Leu Met Arg Phe Ser  
195 200 205  
Glu Met Cys Gly Ala Glu Val Pro Arg Trp Ile Ala Arg Arg Leu Glu  
210 215 220  
Ser Phe Gly Asp Asp Arg Glu Ser Ile Arg Ala Phe Gly Leu Asp Val  
225 230 235 240  
Val Thr Asp Leu Cys Arg Arg Leu Ile Asp Ala Lys Val Pro Gly Leu  
245 250 255  
His Phe Tyr Thr Leu Asn Gly Ala Ala Ala Thr Lys Ala Ile Cys Glu  
260 265 270

Arg Leu Asn Val  
275

<210> 11  
<211> 846  
<212> DNA  
<213> Nitrosomonas europaea

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(843)  
<223> RNE02657

<400> 11

atg caa tcc cag aaa aaa ttt acc ccc aca ttc agt ttt gaa ttt ttc	48
Met Gln Ser Gln Lys Lys Phe Thr Pro Thr Phe Ser Phe Glu Phe Phe	
1 5 10 15	
cgc ccg cag aca ccg gaa ggc atg gaa aag ctg cgg gca acg cgc ata	96
Pro Pro Gln Thr Pro Glu Gly Met Glu Lys Leu Arg Ala Thr Arg Ile	
20 25 30	
cag ctt gct cag ttc aat ccg aag ttt ttt tcg gtg acg ttt ggt gcc	144
Gln Leu Ala Gln Phe Asn Pro Lys Phe Phe Ser Val Thr Phe Gly Ala	
35 40 45	
ggc gga tcc act cgt gaa cgc acg ctc gaa acc gtg ctg gaa att cag	192
Gly Gly Ser Thr Arg Glu Arg Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Ile Gln	
50 55 60	
gca gaa ggc tat ccg gta gcg ccc cat ctt tcc tgt atc ggc tcc acg	240
Ala Glu Gly Tyr Pro Val Ala Pro His Leu Ser Cys Ile Gly Ser Thr	
65 70 75 80	
cgt gac aat atc cgt tcg atc ctt gag aaa tat cac agt cac ggt atc	288
Arg Asp Asn Ile Arg Ser Ile Leu Glu Lys Tyr His Ser His Gly Ile	
85 90 95	
agc cgc att gtg gcg cta cgt ggt gat tta ccc tcc ggc atg gcg cag	336
Ser Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Ala Gln	
100 105 110	
gcg gga gaa ttc cgc tac gcc aac gag ctg gta gca ttt atc cgc aag	384
Ala Gly Glu Phe Arg Tyr Ala Asn Glu Leu Val Ala Phe Ile Arg Lys	
115 120 125	
gag ttc ggt gat acc ttc tgg atc gaa gtg gcg gct tat ccg gaa tat	432
Glu Phe Gly Asp Thr Phe Trp Ile Glu Val Ala Ala Tyr Pro Glu Tyr	
130 135 140	
cat cca caa gcc cgc tcc gct ctg gag gat ttc acc aat ttc aga cga	480
His Pro Gln Ala Arg Ser Ala Leu Glu Asp Phe Thr Asn Phe Arg Arg	
145 150 155 160	
aaa gtc gaa gca ggt tcc aat gca gcg att acc cag ttt ttc tat aac	528
Lys Val Glu Ala Gly Ser Asn Ala Ala Ile Thr Gln Phe Phe Tyr Asn	
165 170 175	



gtg gat gcc tat ctg cat ttc gta gag atg tgt gaa gct gcg gat ctg 576  
Val Asp Ala Tyr Leu His Phe Val Glu Met Cys Glu Ala Ala Asp Leu  
180 185 190

aat atc ccg atc gtt ccc ggc atc atg ccg atc agc aaa ttt tct caa 624  
Asn Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Ile Ser Lys Phe Ser Gln  
195 200 205

ctg gca aga ttt tcg gat ggc tgt gga gca gaa att cca cgc tgg att 672  
Leu Ala Arg Phe Ser Asp Gly Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile  
210 215 220

cgc aga aaa ctg gaa agc ttc ggt gat gat att ccg tct atc cag gca 720  
Arg Arg Lys Leu Glu Ser Phe Gly Asp Asp Ile Pro Ser Ile Gln Ala  
225 230 235 240

ttc ggg ctg gat gtc gtc aca gcg tta tgt gct cgt ctg ctg gaa gcc 768  
Phe Gly Leu Asp Val Val Thr Ala Leu Cys Ala Arg Leu Leu Glu Ala  
245 250 255

ggc gca ccc ggc ctg cat ttc tac aca ctc aac tcc gcc gta cta ccc 816  
Gly Ala Pro Gly Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Ser Ala Val Leu Pro  
260 265 270

aca aaa atc tgg caa cgc ctg ggg tta tag 846  
Thr Lys Ile Trp Gln Arg Leu Gly Leu  
275 280

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 281

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nitrosomonas europaea

&lt;400&gt; 12

Met Gln Ser Gln Lys Lys Phe Thr Pro Thr Phe Ser Phe Glu Phe Phe  
1 5 10 15

Pro Pro Gln Thr Pro Glu Gly Met Glu Lys Leu Arg Ala Thr Arg Ile  
20 25 30

Gln Leu Ala Gln Phe Asn Pro Lys Phe Phe Ser Val Thr Phe Gly Ala  
35 40 45

Gly Gly Ser Thr Arg Glu Arg Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Ile Gln  
50 55 60

Ala Glu Gly Tyr Pro Val Ala Pro His Leu Ser Cys Ile Gly Ser Thr  
65 70 75 80

Arg Asp Asn Ile Arg Ser Ile Leu Glu Lys Tyr His Ser His Gly Ile  
85 90 95

Ser Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Ala Gln  
100 105 110

Ala Gly Glu Phe Arg Tyr Ala Asn Glu Leu Val Ala Phe Ile Arg Lys  
115 120 125

Glu Phe Gly Asp Thr Phe Trp Ile Glu Val Ala Ala Tyr Pro Glu Tyr

130

135

140

His Pro Gln Ala Arg Ser Ala Leu Glu Asp Phe Thr Asn Phe Arg Arg  
 145 150 155 160

Lys Val Glu Ala Gly Ser Asn Ala Ala Ile Thr Gln Phe Phe Tyr Asn  
 165 170 175

Val Asp Ala Tyr Leu His Phe Val Glu Met Cys Glu Ala Ala Asp Leu  
 180 185 190

Asn Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Ile Ser Lys Phe Ser Gln  
 195 200 205

Leu Ala Arg Phe Ser Asp Gly Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile  
 210 215 220

Arg Arg Lys Leu Glu Ser Phe Gly Asp Asp Ile Pro Ser Ile Gln Ala  
 225 230 235 240

Phe Gly Leu Asp Val Thr Ala Leu Cys Ala Arg Leu Leu Glu Ala  
 245 250 255

Gly Ala Pro Gly Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Ser Ala Val Leu Pro  
 260 265 270

Thr Lys Ile Trp Gln Arg Leu Gly Leu  
 275 280

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 873

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Pseudomonas aeruginosa

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (870)

&lt;223&gt; RPA03308

&lt;400&gt; 13

gtg gtc gcg tcc aag gaa ccg atc atg agt cag agc gaa cgc cgt ttc 48  
 Val Val Ala Ser Lys Glu Pro Ile Met Ser Gln Ser Glu Arg Arg Phe  
 1 5 10 15

agc ttc gag ttc ttc ccg gcg aag acc gag gcc ggc cat gaa aag ctg 96  
 Ser Phe Glu Phe Phe Pro Ala Lys Thr Glu Ala Gly His Glu Lys Leu  
 20 25 30

ttg gcc acc gcc cgc aac ctg gcg ggc tac aag ccc gac ttc ttc tcc 144  
 Leu Ala Thr Ala Arg Asn Leu Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser  
 35 40 45

tgc acc tac ggc gcc ggc gga tcc acc cgc gac cgc acg ttg agt acc 192  
 Cys Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Leu Ser Thr  
 50 55 60

gtg ctg caa ctg gac ggc gag gtg aag gtg ccg acc gcg ccg cac ctg 240  
 Val Leu Gln Leu Asp Gly Glu Val Lys Val Pro Thr Ala Pro His Leu  
 65 70 75 80

17

tcc tgt gtc ggc gac tcg aaa gcc gag ttg cgc gaa ctg ctc ggc cgc	288
Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Ala Glu Leu Arg Glu Leu Leu Gly Arg	
85 90 95	
tac cgc gag gcc ggc atc cgc cgc atc gtc gcc ctg cgc ggc gac ctg	336
Tyr Arg Glu Ala Gly Ile Arg Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu	
100 105 110	
ccg tcg ggc atg ggc atg gcc agc ggc gaa ctg cgc tac gcc aac gaa	384
Pro Ser Gly Met Gly Met Ala Ser Gly Glu Leu Arg Tyr Ala Asn Glu	
115 120 125	
ctg gtg gac ttc atc cgc acc gag acc ggc gac cac ttc cac atc gag	432
Leu Val Asp Phe Ile Arg Thr Glu Thr Gly Asp His Phe His Ile Glu	
130 135 140	
gtc gcc gcc tat ccg gag gtc cac ccc cag gcg cgc agc ttc gag gat	480
Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Gln Ala Arg Ser Phe Glu Asp	
145 150 155 160	
gac ctg gcg aac ttc gtg cgc aag gtg aag gcc ggc gcc agc agc gcc	528
Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Val Lys Ala Gly Ala Ser Ser Ala	
165 170 175	
atc acc cag tac ttc ttc aac gcc gat gcc tat ttc tac ttc gtc gag	576
Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe Tyr Phe Val Glu	
180 185 190	
cgg gtc gcc aag ctc ggc gtg gac atc ccg gtg gtc ccc ggc atc atg	624
Arg Val Ala Lys Leu Gly Val Asp Ile Pro Val Val Pro Gly Ile Met	
195 200 205	
ccg atc acc aac tac tcc aag ctg gcg cgc ttc tcc gac gcc tgc ggc	672
Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly	
210 215 220	
gcc gaa ctg ccg cgc tgg atc cgc aag caa ctg gaa gcc tac ggc gac	720
Ala Glu Leu Pro Arg Trp Ile Arg Lys Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp	
225 230 235 240	
gac agc cgc agc atc cag gcc ttc ggc gag cag gtc atc agc gag atg	768
Asp Ser Arg Ser Ile Gln Ala Phe Gly Glu Gln Val Ile Ser Glu Met	
245 250 255	
tgc gaa cgc ctg ctg gag ggc ggc gca ccg gga ctg cat ttc tat act	816
Cys Glu Arg Leu Leu Glu Gly Gly Ala Pro Gly Leu His Phe Tyr Thr	
260 265 270	
ttg aac cag gcc gat ccg agc ctg gcg atc tgg aag aat ctc cag ctg	864
Leu Asn Gln Ala Asp Pro Ser Leu Ala Ile Trp Lys Asn Leu Gln Leu	
275 280 285	
cca cgc tga	873
Pro Arg	
290	

<210> 14  
 <211> 290  
 <212> PRT

<213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 14

Val Val Ala Ser Lys Glu Pro Ile Met Ser Gln Ser Glu Arg Arg Phe  
 1 5 10 15  
 Ser Phe Glu Phe Phe Pro Ala Lys Thr Glu Ala Gly His Glu Lys Leu  
 20 25 30  
 Leu Ala Thr Ala Arg Asn Leu Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser  
 35 40 45  
 Cys Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Leu Ser Thr  
 50 55 60  
 Val Leu Gln Leu Asp Gly Glu Val Lys Val Pro Thr Ala Pro His Leu  
 65 70 75 80  
 Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Ala Glu Leu Arg Glu Leu Leu Gly Arg  
 85 90 95  
 Tyr Arg Glu Ala Gly Ile Arg Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu  
 100 105 110  
 Pro Ser Gly Met Gly Met Ala Ser Gly Glu Leu Arg Tyr Ala Asn Glu  
 115 120 125  
 Leu Val Asp Phe Ile Arg Thr Glu Thr Gly Asp His Phe His Ile Glu  
 130 135 140  
 Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Gln Ala Arg Ser Phe Glu Asp  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Val Lys Ala Gly Ala Ser Ser Ala  
 165 170 175  
 Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe Tyr Phe Val Glu  
 180 185 190  
 Arg Val Ala Lys Leu Gly Val Asp Ile Pro Val Val Pro Gly Ile Met  
 195 200 205  
 Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly  
 210 215 220  
 Ala Glu Leu Pro Arg Trp Ile Arg Lys Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp  
 225 230 235 240  
 Asp Ser Arg Ser Ile Gln Ala Phe Gly Glu Gln Val Ile Ser Glu Met  
 245 250 255  
 Cys Glu Arg Leu Leu Glu Gly Gly Ala Pro Gly Leu His Phe Tyr Thr  
 260 265 270  
 Leu Asn Gln Ala Asp Pro Ser Leu Ala Ile Trp Lys Asn Leu Gln Leu  
 275 280 285  
 Pro Arg  
 290

<210> 15  
 <211> 828  
 <212> DNA  
 <213> Xylella almond

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1) .. (825)  
 <223> RXFX00359

<400> 15  
 atg att cca atc agc ttc gag ttt tat cca ccc aaa aac gac gat caa 48  
 Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln  
 1 5 10 15

cgc gca cag ttg gac agg aca gca aac cgg cta cgc gca ttc gca cca 96  
 Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro  
 20 25 30

gaa tac gtc tcc tgc acc ttc ggc gcc ggt ggc tcc aca ctc agt tac 144  
 Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Leu Ser Tyr  
 35 40 45

acc tca gaa aca gtg cgc cat ctc agc caa cac cac ggc ttt gac gcc 192  
 Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Ala  
 50 55 60

gca ccg cat ctg tcc tgt gtg ggc ggc agt cgc caa gaa atc cgc gaa 240  
 Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu  
 65 70 75 80

ctt ctc aaa ctg tac cgc gcg att ggc tgc caa cgc atc gtg gcg cta 288  
 Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu  
 85 90 95

cgc ggc gat ctc ccc tcg ggc atg ggc cac ccc ggc gac ctc cgc tac 336  
 Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr  
 100 105 110

gca gct gac ctg att acc ttc atc cgt acc gag cat ggc gat cac ttc 384  
 Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Thr Glu His Gly Asp His Phe  
 115 120 125

cac cta gag atc ggc gca tac ccg gaa acc cac cca caa gcc agc aac 432  
 His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn  
 130 135 140

aca ctg aac gac ctt cac tat ttc aaa gcc aaa gcc gat gca ggc gcc 480  
 Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala  
 145 150 155 160

gat gcg gca atc act caa tac ttt tat aac cca gac gcc tat ttc cac 528  
 Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His  
 165 170 175

ttc gtc gac gca gtg cag cgc ctg ggc gtc acc atc ccc att gtt gcc 576  
 Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala  
 180 185 190

gga gtc atg ccc atc tcc aac ttt gac cag ttg cgc cat ttc tcc gaa 624

Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu  
 195 200 205  
 caa tgc ggc gcc gaa ata ccc cgc tgg att aca aaa aaa atg cag gct 672  
 Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala  
 210 215 220  
 tac ggc gac gac acc aaa tcg ata cgc gcg ttc ggt gcc gac gtc gtg 720  
 Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val  
 225 230 235 240  
 acc gca tta tgt gag cgg cta atc gct ggc ggc gca ccg ggg ctg cac 768  
 Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His  
 245 250 255  
 ttc tac acg ctc aac cta gcc aaa cca agc acc caa gtg ctg caa cgc 816  
 Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg  
 260 265 270  
 tta ggc tat tga 828  
 Leu Gly Tyr  
 275  
 <210> 16  
 <211> 275  
 <212> PRT  
 <213> Xylella almond  
 <400> 16  
 Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln  
 1 5 10 15  
 Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro  
 20 25 30  
 Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Leu Ser Tyr  
 35 40 45  
 Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Ala  
 50 55 60  
 Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu  
 65 70 75 80  
 Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu  
 85 90 95  
 Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr  
 100 105 110  
 Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Thr Glu His Gly Asp His Phe  
 115 120 125  
 His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn  
 130 135 140  
 Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala  
 145 150 155 160

21

Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His  
165 170 175

Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala  
180 185 190

Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu  
195 200 205

Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala  
210 215 220

Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val  
225 230 235 240

Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His  
245 250 255

Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg  
260 265 270

Leu Gly Tyr  
275

<210> 17

<211> 828

<212> DNA

<213> Xylella oleander

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (825)

<223> RXFY01676

<400> 17

atg att cca atc agc ttc gag ttt tat cca ccc aaa aac gac gat caa 48  
Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln  
1 5 10 15

cgc gca cag ttg gac agg aca gca aac cgg cta cgc gca ttc gca cca 96  
Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro  
20 25 30

gaa tac gtc tcc tgc acc ttc ggc gcc ggc ggc tcc aca ctc agt tac 144  
Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Leu Ser Tyr  
35 40 45

acc tca gaa aca gtg cgc cat ctc agt caa cac cac ggc ttt gac acc 192  
Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Thr  
50 55 60

gca ccg cat ctg tcc tgt gtg ggc ggc agt cgc caa gaa atc cgc gaa 240  
Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu  
65 70 75 80

ctt ctc aaa ctg tac cgc gcg att ggc tgc caa cgc atc gtg gcg cta 288  
Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu  
85 90 95

cgc ggc gat ctc ccc tcg ggc atg ggc cac ccc ggc gac ctc cgc tac 336  
 Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr  
 100 105 110

gca gct gac ctg att acc ttc atc cgt gcc gag cat ggc gat cac ttc 384  
 Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Ala Glu His Gly Asp His Phe  
 115 120 125

cac cta gag atc ggc gca tac ccg gaa acc cac cca caa gcc agc aac 432  
 His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn  
 130 135 140

aca ctg aac gac ctt cac tat ttc aaa gcc aaa gcc gat gca ggc gcc 480  
 Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala  
 145 150 155 160

gat gcg gca atc act caa tac ttt tac aac cca gac gcc tat ttc cac 528  
 Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His  
 165 170 175

ttc gtc gac gca gtg cag cgc ctg ggc gtc acc atc ccc att gtt gcc 576  
 Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala  
 180 185 190

gga gtc atg ccc atc tcc aac ttt gac cag ttg cgc cat ttc tcc gaa 624  
 Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu  
 195 200 205

caa tgc ggc gcc gaa ata ccc cgc tgg att aca aaa aaa atg cag gct 672  
 Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala  
 210 215 220

tac ggc gat gac acc aaa tcg ata cgc gcg ttc ggt gcc gad gtc gtg 720  
 Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val  
 225 230 235 240

acc gca cta tgt gag cgg cta atc gct ggc ggc gca ccg ggg ctg cac 768  
 Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His  
 245 250 255

ttc tac acg ctc aac cta gcc aaa cca agc acc caa gtg ctg caa cgc 816  
 Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg  
 260 265 270

tta ggc tat tga 828  
 Leu Gly Tyr  
 275

<210> 18  
 <211> 275  
 <212> PRT  
 <213> Xylella oleander

<400> 18  
 Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln  
 1 5 10 15



Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro  
 20 25 30  
 Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Leu Ser Tyr  
 35 40 45  
 Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Thr  
 50 55 60  
 Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu  
 65 70 75 80  
 Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu  
 85 90 95  
 Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr  
 100 105 110  
 Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Ala Glu His Gly Asp His Phe  
 115 120 125  
 His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn  
 130 135 140  
 Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala  
 145 150 155 160  
 Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His  
 165 170 175  
 Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala  
 180 185 190  
 Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu  
 195 200 205  
 Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala  
 210 215 220  
 Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val  
 225 230 235 240  
 Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His  
 245 250 255  
 Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg  
 260 265 270  
 Leu Gly Tyr  
 275

<210> 19  
 <211> 846

<212> DNA  
 <213> *Pseudomonas fluorescens*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1) .. (843)

&lt;223&gt; RPU04845

&lt;400&gt; 19

atg tcc caa gac cgt cgc tac agc ttc gag ttc ttc ccg acc aag acc	48
Met Ser Gln Asp Arg Arg Tyr Ser Phe Glu Phe Phe Pro Thr Lys Thr	
1 5 10 15	
gat gct ggg cat gaa aaa ctg ctc gcc act gcc cgt cag ctg gcc acc	96
Asp Ala Gly His Glu Lys Leu Leu Ala Thr Ala Arg Gln Leu Ala Thr	
20 25 30	
tat aag cct gac ttc ttt tcc tgc acc tac ggc gct ggc ggt tcg acc	144
Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser Cys Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr	
35 40 45	
cgt gac cgc acg ctg aac acc gtt ctg cag ctg gaa agc gaa gtc aaa	192
Arg Asp Arg Thr Leu Asn Thr Val Leu Gln Leu Glu Ser Glu Val Lys	
50 55 60	
atc ccc gcc gca ccg cac ctg tcg tgc gtc ggc gac agc aag gac gac	240
Ile Pro Ala Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Asp Asp	
65 70 75 80	
ctg cgc ggc ctg ctg aac gag tac aag gcc gcc ggc atc aag cgc atc	288
Leu Arg Gly Leu Leu Asn Glu Tyr Lys Ala Ala Gly Ile Lys Arg Ile	
85 90 95	
gtc gcc ctg cgc ggt gac ctg ccg tcc ggc atg ggc atg acc agc ggc	336
Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly Met Thr Ser Gly	
100 105 110	
gag ctg cgt cac gcc aat gaa ctg gtt gaa ttc att cgt gaa gaa acc	384
Glu Leu Arg His Ala Asn Glu Leu Val Glu Phe Ile Arg Glu Glu Thr	
115 120 125	
ggc aat cat ttc cac atc gaa gtc gcc gcc tac ccg gag atg cat ccg	432
Gly Asn His Phe His Ile Glu Val Ala Ala Tyr Pro Glu Met His Pro	
130 135 140	
caa gcg cgc aac tac gaa gac gat ctc gcc aac ttc gtg cgc aag gcc	480
Gln Ala Arg Asn Tyr Glu Asp Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Ala	
145 150 155 160	
cgt gcc ggc gcc gac agc gcg atc acc cag tac ttc ttc aac gcc gac	528
Arg Ala Gly Ala Asp Ser Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp	
165 170 175	
agc tac ttc tac ttc gtc gac cgt ttg cag gcg ctg ggc gtg gac att	576
Ser Tyr Phe Tyr Phe Val Asp Arg Leu Gln Ala Leu Gly Val Asp Ile	
180 185 190	
ccg gtg gta ccg ggg atc atg ccg atc acc aac tac agc aaa ctc gcg	624
Pro Val Val Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala	
195 200 205	
cgc ttc tcc gat gcc tgc ggt gcg gaa atc ccg cgc tgg atc cgc aag	672
Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Arg Lys	
210 215 220	
cag ctg gaa gcc tac ggc gat gac agc caa agc att cag cgc ttt ggc	720
Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp Asp Ser Gln Ser Ile Gln Arg Phe Gly	

225		230		235		240	
gaa caa gtc gtc acg gaa atg tgc gaa cgc ctg ctg caa ggc ggc gcg	768						
Glu Gln Val Val Thr Glu Met Cys Glu Arg Leu Leu Gln Gly Gly Ala							
		245		250		255	
ccc ggc ctg cac ttc tat tcc atg aac cag gcc gaa cca agc ctg gcg	816						
Pro Gly Leu His Phe Tyr Ser Met Asn Gln Ala Glu Pro Ser Leu Ala							
		260		265		270	
atc tgg aac aac ctg aag ctg ccg cgc taa	846						
Ile Trp Asn Asn Leu Lys Leu Pro Arg							
		275		280			

```
<210> 20
<211> 281
<212> PRT
<213> Pseudomonas fluorescens
```

<400> 20																			
Met	Ser	Gln	Asp	Arg	Arg	Tyr	Ser	Phe	Glu	Phe	Phe	Pro	Thr	Lys	Thr	1	5	10	15
Asp	Ala	Gly	His	Glu	Lys	Leu	Leu	Ala	Thr	Ala	Arg	Gln	Leu	Ala	Thr	20	25	30	
Tyr	Lys	Pro	Asp	Phe	Phe	Ser	Cys	Thr	Tyr	Gly	Ala	Gly	Gly	Ser	Thr	35	40	45	
Arg	Asp	Arg	Thr	Leu	Asn	Thr	Val	Leu	Gln	Leu	Glu	Ser	Glu	Val	Lys	50	55	60	
Ile	Pro	Ala	Ala	Pro	His	Leu	Ser	Cys	Val	Gly	Asp	Ser	Lys	Asp	Asp	65	70	75	80
Leu	Arg	Gly	Leu	Leu	Asn	Glu	Tyr	Lys	Ala	Ala	Gly	Ile	Lys	Arg	Ile	85	90	95	
Val	Ala	Leu	Arg	Gly	Asp	Leu	Pro	Ser	Gly	Met	Gly	Met	Thr	Ser	Gly	100	105	110	
Glu	Leu	Arg	His	Ala	Asn	Glu	Leu	Val	Glu	Phe	Ile	Arg	Glu	Glu	Thr	115	120	125	
Gly	Asn	His	Phe	His	Ile	Glu	Val	Ala	Ala	Tyr	Pro	Glu	Met	His	Pro	130	135	140	
Gln	Ala	Arg	Asn	Tyr	Glu	Asp	Asp	Leu	Ala	Asn	Phe	Val	Arg	Lys	Ala	145	150	155	160
Arg	Ala	Gly	Ala	Asp	Ser	Ala	Ile	Thr	Gln	Tyr	Phe	Phe	Asn	Ala	Asp	165	170	175	
Ser	Tyr	Phe	Tyr	Phe	Val	Asp	Arg	Leu	Gln	Ala	Leu	Gly	Val	Asp	Ile	180	185	190	
Pro	Val	Val	Pro	Gly	Ile	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Tyr	Ser	Lys	Leu	Ala	195	200	205	
Arg	Phe	Ser	Asp	Ala	Cys	Gly	Ala	Glu	Ile	Pro	Arg	Trp	Ile	Arg	Lys				

210

215

220

Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp Asp Ser Gln Ser Ile Gln Arg Phe Gly  
 225 230 235 240

Glu Gln Val Val Thr Glu Met Cys Glu Arg Leu Leu Gln Gly Gly Ala  
 245 250 255

Pro Gly Leu His Phe Tyr Ser Met Asn Gln Ala Glu Pro Ser Leu Ala  
 260 265 270

Ile Trp Asn Asn Leu Lys Leu Pro Arg  
 275 280

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 1812

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Schizosaccharomyces pombe

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(1809)

&lt;223&gt; RSO01645

&lt;400&gt; 21

atg aaa ata agt gac aaa tta ctt cac ccg gat tgg aag gaa aaa gtt 48  
 Met Lys Ile Ser Asp Lys Leu Leu His Pro Asp Trp Lys Glu Lys Val  
 1 5 10 15

act tac agt tat gaa ttt ttt cct cca aaa acg agc act ggt gtc caa 96  
 Thr Tyr Ser Tyr Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Ser Thr Gly Val Gln  
 20 25 30

aat ctt tac aat cgt ata gat cgc atg aag act tgg ggt cgt ccc atg 144  
 Asn Leu Tyr Asn Arg Ile Asp Arg Met Lys Thr Trp Gly Arg Pro Met  
 35 40 45

ttt gtc gat gtg act tgg ggt gct ggt ggt act tct tca gaa ctg act 192  
 Phe Val Asp Val Thr Trp Gly Ala Gly Gly Thr Ser Ser Glu Leu Thr  
 50 55 60

cct gga atc gtt aat gta att caa aca gat ttt gaa gtg gat act tgc 240  
 Pro Gly Ile Val Asn Val Ile Gln Thr Asp Phe Glu Val Asp Thr Cys  
 65 70 75 80

atg cat ttg act tgt acg aac atg tcc aca gaa atg att gac gca gct 288  
 Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Ser Thr Glu Met Ile Asp Ala Ala  
 85 90 95

ttg aaa cgg gct cat gaa aca ggg tgt cgt aac ata ttg gcc ctt aga 336  
 Leu Lys Arg Ala His Glu Thr Gly Cys Arg Asn Ile Leu Ala Leu Arg  
 100 105 110

ggt gat cct gtt aaa gat aca gac tgg act gaa ggc gaa agt gga ttc 384  
 Gly Asp Pro Val Lys Asp Thr Asp Trp Thr Glu Gly Glu Ser Gly Phe  
 115 120 125

cgg tat gct tca gac tta gtt aga tat att cgc aca cat tat aat gat 432  
 Arg Tyr Ala Ser Asp Leu Val Arg Tyr Ile Arg Thr His Tyr Asn Asp  
 130 135 140

gaa ttc tgt att ggt gta gct ggc tat cca gaa gga tat tca cca gat	480
Glu Phe Cys Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Tyr Ser Pro Asp	
145 150 155 160	
gat gac att gat gaa agc ata aag cat ctg aaa tta aaa gtc gat gaa	528
Asp Asp Ile Asp Glu Ser Ile Lys His Leu Lys Leu Lys Val Asp Glu	
165 170 175	
ggt gct gat ttt atc gtt act caa atg ttt tat gat gta gac aat ttt	576
Gly Ala Asp Phe Ile Val Thr Gln Met Phe Tyr Asp Val Asp Asn Phe	
180 185 190	
atc gca tgg gtc gat aaa gtg cgt gca gca gga ata aat atc cct ata	624
Ile Ala Trp Val Asp Lys Val Arg Ala Ala Gly Ile Asn Ile Pro Ile	
195 200 205	
ttt ccg ggc att atg cct att cag gca tgg gat tcc ttt att cgg aga	672
Phe Pro Gly Ile Met Pro Ile Gln Ala Trp Asp Ser Phe Ile Arg Arg	
210 215 220	
gcg aaa tgg agc ggt gtt aaa att ccc cag cat ttt atg gat act cta	720
Ala Lys Trp Ser Gly Val Lys Ile Pro Gln His Phe Met Asp Thr Leu	
225 230 235 240	
gtc cca gtt aaa gac gat gat gaa gga gtc cgt gag cgt ggt gtt gag	768
Val Pro Val Lys Asp Asp Asp Glu Gly Val Arg Glu Arg Gly Val Glu	
245 250 255	
ctc ata gtc gaa atg tgc cgt aag ctt ata gct agt ggc att acg aga	816
Leu Ile Val Glu Met Cys Arg Lys Leu Ile Ala Ser Gly Ile Thr Arg	
260 265 270	
ctt cat ttt tac act atg aat tta gaa aag gcc gtt aaa atg att att	864
Leu His Phe Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala Val Lys Met Ile Ile	
275 280 285	
gaa cga tta ggt tta tta gat gaa aac ttg gct cct ata gtg gat act	912
Glu Arg Leu Gly Leu Leu Asp Glu Asn Leu Ala Pro Ile Val Asp Thr	
290 295 300	
aat aac gtc gag tta acc aat gct tcc agt caa gat cgt cgg ata aat	960
Asn Asn Val Glu Leu Thr Asn Ala Ser Ser Gln Asp Arg Arg Ile Asn	
305 310 315 320	
gaa ggt gta cgg ccc att ttc tgg cgc act cgt aat gaa agt tat gtc	1008
Glu Gly Val Arg Pro Ile Phe Trp Arg Thr Arg Asn Glu Ser Tyr Val	
325 330 335	
tcg cgt act gat cag tgg gac gaa tta ccg cat ggt cgt tgg ggt gac	1056
Ser Arg Thr Asp Gln Trp Asp Glu Leu Pro His Gly Arg Trp Gly Asp	
340 345 350	
tct cgt agc cct gct ttt ggc gaa ttt gat gct att aga tat ggt ctt	1104
Ser Arg Ser Pro Ala Phe Gly Glu Phe Asp Ala Ile Arg Tyr Gly Leu	
355 360 365	
cgt atg tct ccc aag gag atc aca aca tcg tgg ggg tct cct aaa tct	1152
Arg Met Ser Pro Lys Glu Ile Thr Thr Ser Trp Gly Ser Pro Lys Ser	
370 375 380	

tac tcg gaa atc ggc gat ttg ttt gcc agg tac tgt gaa aaa aag att	1200
Tyr Ser Glu Ile Gly Asp Leu Phe Ala Arg Tyr Cys Glu Lys Lys Ile	
385 390 395 400	
agc tcc ctc cct tgg agt gat ctt ccc ata tcc gat gaa gcc gac ttg	1248
Ser Ser Leu Pro Trp Ser Asp Leu Pro Ile Ser Asp Glu Ala Asp Leu	
405 410 415	
att cgg gat caa ctt cta agt atg aat aga aac gct ttc ctt act ata	1296
Ile Arg Asp Gln Leu Leu Ser Met Asn Arg Asn Ala Phe Leu Thr Ile	
420 425 430	
aat tct caa cct gct ctt aac ggc gaa aag agt tca cat cct gtt ttt	1344
Asn Ser Gln Pro Ala Leu Asn Gly Glu Lys Ser Ser His Pro Val Phe	
435 440 445	
gga tgg gga cca cct aat ggt tat gtt ttc caa aaa cca tac gtt gag	1392
Gly Trp Gly Pro Pro Asn Gly Tyr Val Phe Gln Lys Pro Tyr Val Glu	
450 455 460	
ttt ttc gtt cac ccc tca ctc ttg aat gaa ctc aaa gaa acc gtt aaa	1440
Phe Phe Val His Pro Ser Leu Leu Asn Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys	
465 470 475 480	
aag ctt aat tca gtt tcc tac ttt gtt aca aac aag aat gga gac ttg	1488
Lys Leu Asn Ser Val Ser Tyr Phe Val Thr Asn Lys Asn Gly Asp Leu	
485 490 495	
gat acc aac tca caa tat gag att cca aat gcg gtt aca tgg ggt gtt	1536
Asp Thr Asn Ser Gln Tyr Glu Ile Pro Asn Ala Val Thr Trp Gly Val	
500 505 510	
ttc cct aat cgt gag att atc caa cct act att gtc gag tca acc tct	1584
Phe Pro Asn Arg Glu Ile Ile Gln Pro Thr Ile Val Glu Ser Thr Ser	
515 520 525	
ttt ctt gct tgg aaa gat gaa gcc tat tca ttg ggc atg gaa tgg gct	1632
Phe Leu Ala Trp Lys Asp Glu Ala Tyr Ser Leu Gly Met Glu Trp Ala	
530 535 540	
aat gca tat agc cct gat tca att tct cgt aaa ctt ttg gtt tct atg	1680
Asn Ala Tyr Ser Pro Asp Ser Ile Ser Arg Lys Leu Leu Val Ser Met	
545 550 555 560	
atg aag gaa tgg ttc ctt tgt gtc ata gtt gat aac gat ttt caa aat	1728
Met Lys Glu Trp Phe Leu Cys Val Ile Val Asp Asn Asp Phe Gln Asn	
565 570 575	
ggg caa tct ttg ttt gat gtt ttt aac aaa atg aga tct tta aaa gac	1776
Gly Gln Ser Leu Phe Asp Val Phe Asn Lys Met Arg Ser Leu Lys Asp	
580 585 590	
atc cat cct gag cta tat tat gca aat gca tca taa	1812
Ile His Pro Glu Leu Tyr Tyr Ala Asn Ala Ser	
595 600	

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 603

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Schizosaccharomyces pombe

&lt;400&gt; 22

Met Lys Ile Ser Asp Lys Leu Leu His Pro Asp Trp Lys Glu Lys Val  
 1 5 10 15  
 Thr Tyr Ser Tyr Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Ser Thr Gly Val Gln  
 20 25 30  
 Asn Leu Tyr Asn Arg Ile Asp Arg Met Lys Thr Trp Gly Arg Pro Met  
 35 40 45  
 Phe Val Asp Val Thr Trp Gly Ala Gly Gly Thr Ser Ser Glu Leu Thr  
 50 55 60  
 Pro Gly Ile Val Asn Val Ile Gln Thr Asp Phe Glu Val Asp Thr Cys  
 65 70 75 80  
 Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Ser Thr Glu Met Ile Asp Ala Ala  
 85 90 95  
 Leu Lys Arg Ala His Glu Thr Gly Cys Arg Asn Ile Leu Ala Leu Arg  
 100 105 110  
 Gly Asp Pro Val Lys Asp Thr Asp Trp Thr Glu Gly Glu Ser Gly Phe  
 115 120 125  
 Arg Tyr Ala Ser Asp Leu Val Arg Tyr Ile Arg Thr His Tyr Asn Asp  
 130 135 140  
 Glu Phe Cys Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Tyr Ser Pro Asp  
 145 150 155 160  
 Asp Asp Ile Asp Glu Ser Ile Lys His Leu Lys Leu Lys Val Asp Glu  
 165 170 175  
 Gly Ala Asp Phe Ile Val Thr Gln Met Phe Tyr Asp Val Asp Asn Phe  
 180 185 190  
 Ile Ala Trp Val Asp Lys Val Arg Ala Ala Gly Ile Asn Ile Pro Ile  
 195 200 205  
 Phe Pro Gly Ile Met Pro Ile Gln Ala Trp Asp Ser Phe Ile Arg Arg  
 210 215 220  
 Ala Lys Trp Ser Gly Val Lys Ile Pro Gln His Phe Met Asp Thr Leu  
 225 230 235 240  
 Val Pro Val Lys Asp Asp Asp Glu Gly Val Arg Glu Arg Gly Val Glu  
 245 250 255  
 Leu Ile Val Glu Met Cys Arg Lys Leu Ile Ala Ser Gly Ile Thr Arg  
 260 265 270  
 Leu His Phe Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala Val Lys Met Ile Ile  
 275 280 285  
 Glu Arg Leu Gly Leu Leu Asp Glu Asn Leu Ala Pro Ile Val Asp Thr  
 290 295 300  
 Asn Asn Val Glu Leu Thr Asn Ala Ser Ser Gln Asp Arg Arg Ile Asn  
 305 310 315 320

Glu Gly Val Arg Pro Ile Phe Trp Arg Thr Arg Asn Glu Ser Tyr Val  
 325 330 335  
 Ser Arg Thr Asp Gln Trp Asp Glu Leu Pro His Gly Arg Trp Gly Asp  
 340 345 350  
 Ser Arg Ser Pro Ala Phe Gly Glu Phe Asp Ala Ile Arg Tyr Gly Leu  
 355 360 365  
 Arg Met Ser Pro Lys Glu Ile Thr Thr Ser Trp Gly Ser Pro Lys Ser  
 370 375 380  
 Tyr Ser Glu Ile Gly Asp Leu Phe Ala Arg Tyr Cys Glu Lys Lys Ile  
 385 390 395 400  
 Ser Ser Leu Pro Trp Ser Asp Leu Pro Ile Ser Asp Glu Ala Asp Leu  
 405 410 415  
 Ile Arg Asp Gln Leu Leu Ser Met Asn Arg Asn Ala Phe Leu Thr Ile  
 420 425 430  
 Asn Ser Gln Pro Ala Leu Asn Gly Glu Lys Ser Ser His Pro Val Phe  
 435 440 445  
 Gly Trp Gly Pro Pro Asn Gly Tyr Val Phe Gln Lys Pro Tyr Val Glu  
 450 455 460  
 Phe Phe Val His Pro Ser Leu Leu Asn Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys  
 465 470 475 480  
 Lys Leu Asn Ser Val Ser Tyr Phe Val Thr Asn Lys Asn Gly Asp Leu  
 485 490 495  
 Asp Thr Asn Ser Gln Tyr Glu Ile Pro Asn Ala Val Thr Trp Gly Val  
 500 505 510  
 Phe Pro Asn Arg Glu Ile Ile Gln Pro Thr Ile Val Glu Ser Thr Ser  
 515 520 525  
 Phe Leu Ala Trp Lys Asp Glu Ala Tyr Ser Leu Gly Met Glu Trp Ala  
 530 535 540  
 Asn Ala Tyr Ser Pro Asp Ser Ile Ser Arg Lys Leu Leu Val Ser Met  
 545 550 555 560  
 Met Lys Glu Trp Phe Leu Cys Val Ile Val Asp Asn Asp Phe Gln Asn  
 565 570 575  
 Gly Gln Ser Leu Phe Asp Val Phe Asn Lys Met Arg Ser Leu Lys Asp  
 580 585 590  
 Ile His Pro Glu Leu Tyr Tyr Ala Asn Ala Ser  
 595 600

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 1800

&lt;212&gt; DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*



&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (1797)

&lt;223&gt; RSC08323

&lt;400&gt; 23

atg aag atc aca gaa aaa tta gag caa cat aga cag acc tct ggc aag	48
Met Lys Ile Thr Glu Lys Leu Glu Gln His Arg Gln Thr Ser Gly Lys	
1 5 10 15	
ccc act tac tca ttc gag tac ttc gtc ccg aag act aca caa ggt gta	96
Pro Thr Tyr Ser Phe Glu Tyr Phe Val Pro Lys Thr Thr Gln Gly Val	
20 25 30	
cag aac ctg tat gac cgg atg gac cgg atg tac gag gct tct ttg ccc	144
Gln Asn Leu Tyr Asp Arg Met Asp Arg Met Tyr Glu Ala Ser Leu Pro	
35 40 45	
caa ttt att gac atc acc tgg aat gca ggc ggt gga cgg ttg tca cat	192
Gln Phe Ile Asp Ile Thr Trp Asn Ala Gly Gly Gly Arg Leu Ser His	
50 55 60	
ctg tcc acg gac ttg gtt gcg aca gcg cag tct gtg ctt ggt ttg gaa	240
Leu Ser Thr Asp Leu Val Ala Thr Ala Gln Ser Val Leu Gly Leu Glu	
65 70 75 80	
acg tgc atg cac ctt acc tgc acc aat atg ccc att tcg atg att gac	288
Thr Cys Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Pro Ile Ser Met Ile Asp	
85 90 95	
gac gct tta gaa aac gct tat cac tcc ggt tgc cag aac atc cta gcg	336
Asp Ala Leu Glu Asn Ala Tyr His Ser Gly Cys Gln Asn Ile Leu Ala	
100 105 110	
ctg aga gga gat cct cct agg gac gca gaa aac tgg act ccc gtt gaa	384
Leu Arg Gly Asp Pro Pro Arg Asp Ala Glu Asn Trp Thr Pro Val Glu	
115 120 125	
ggg ggc ttc cag tat gcc aag gac ttg att aag tat atc aag tcc aag	432
Gly Gly Phe Gln Tyr Ala Lys Asp Leu Ile Lys Tyr Ile Lys Ser Lys	
130 135 140	
tac ggt gac cat ttc gct atc ggc gtt gcc ggc tac ccg gag tgc cat	480
Tyr Gly Asp His Phe Ala Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Cys His	
145 150 155 160	
ccg gag ttg cct aac aaa gac gtg aag ctt gat ctc gag tat ttg agc	528
Pro Glu Leu Pro Asn Lys Asp Val Lys Leu Asp Leu Glu Tyr Leu Ser	
165 170 175	
aga aga tcg acc ggc ggc gac ttc atc atc act cag atg ttt tac gat	576
Arg Arg Ser Thr Gly Gly Asp Phe Ile Ile Thr Gln Met Phe Tyr Asp	
180 185 190	
gtt gat aat tta ctc aac tgg tgt tcc caa gtt aga gct gcg ggc atg	624
Val Asp Asn Leu Leu Asn Trp Cys Ser Gln Val Arg Ala Ala Gly Met	
195 200 205	
gac gtg ccc att att ccc ggg atc atg ccg atc act acc tac gcg gcc	672
Asp Val Pro Ile Ile Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Thr Tyr Ala Ala	

210	215	220	
ttc ttg aga agg atc caa tgg ggc caa atc tcc atc cct caa cat ttc			720
Phe Leu Arg Arg Ile Gln Trp Gly Gln Ile Ser Ile Pro Gln His Phe			
225	230	235	240
tcg tcc cga ttg gat cct atc aag gac gat gac gag ttg gtc cgt gat			768
Ser Ser Arg Leu Asp Pro Ile Lys Asp Asp Asp Glu Leu Val Arg Asp			
	245	250	255
atc gga act aac ttg atc gtg gaa atg tgt caa aaa ttg ctc gac agt			816
Ile Gly Thr Asn Leu Ile Val Glu Met Cys Gln Lys Leu Leu Asp Ser			
	260	265	270
ggg tac gtt tct cac ttg cac atc tac acc atg aac ttg gaa aaa gcg			864
Gly Tyr Val Ser His Leu His Ile Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala			
	275	280	285
cct ctc atg att ctg gaa aga ttg aac att cta cct acg gaa tca gag			912
Pro Leu Met Ile Leu Glu Arg Leu Asn Ile Leu Pro Thr Glu Ser Glu			
	290	295	300
ttc aat gca cat cca ttg gcc gtg ttg cca tgg aga aaa tct ttg aat			960
Phe Asn Ala His Pro Leu Ala Val Leu Pro Trp Arg Lys Ser Leu Asn			
305	310	315	320
cca aag cgt aaa aac gag gaa gtc aga cct atc ttc tgg aag aga aga			1008
Pro Lys Arg Lys Asn Glu Glu Val Arg Pro Ile Phe Trp Lys Arg Arg			
	325	330	335
cct tac tcc tat gtc gca aga acc tct caa tgg gcc gtg gac gaa ttc			1056
Pro Tyr Ser Tyr Val Ala Arg Thr Ser Gln Trp Ala Val Asp Glu Phe			
	340	345	350
ccc aac ggt aga ttc ggt gat tcg tct tct cct gcg ttc ggt gac ttg			1104
Pro Asn Gly Arg Phe Gly Asp Ser Ser Ser Pro Ala Phe Gly Asp Leu			
	355	360	365
gat ctg tgt ggt tca gac ttg atc agg caa tca gcg aac aaa tgt ctc			1152
Asp Leu Cys Gly Ser Asp Leu Ile Arg Gln Ser Ala Asn Lys Cys Leu			
	370	375	380
gaa tta tgg tcc acc cct act tcc atc aac gac gtc gcc ttc ttg gtc			1200
Glu Leu Trp Ser Thr Pro Thr Ser Ile Asn Asp Val Ala Phe Leu Val			
385	390	395	400
atc aac tac ttg aat gga aac ttg aag tgt tta cct tgg agt gat atc			1248
Ile Asn Tyr Leu Asn Gly Asn Leu Lys Cys Leu Pro Trp Ser Asp Ile			
	405	410	415
ccc atc aat gat gaa ata aat cca atc aaa gca cac ttg att gag ctg			1296
Pro Ile Asn Asp Glu Ile Asn Pro Ile Lys Ala His Leu Ile Glu Leu			
	420	425	430
aac cag cat tct atc atc act ata aac tct caa cct caa gtc aac ggc			1344
Asn Gln His Ser Ile Ile Thr Ile Asn Ser Gln Pro Gln Val Asn Gly			
	435	440	445
att agg tcc aat gac aaa att cat ggt tgg gga ccc aag gat ggt tac			1392
Ile Arg Ser Asn Asp Lys Ile His Gly Trp Gly Pro Lys Asp Gly Tyr			
	450	455	460

gtt tac cag aag caa tat ttg gaa ttt atg ttg ccc aag act aag ttg 1440  
 Val Tyr Gln Lys Gln Tyr Leu Glu Phe Met Leu Pro Lys Thr Lys Leu  
 465 470 475 480  
 ccc aag ttg att gac acc ttg aaa aac aat gag ttc ttg acc tac ttc 1488  
 Pro Lys Leu Ile Asp Thr Leu Lys Asn Asn Glu Phe Leu Thr Tyr Phe  
 485 490 495  
 gcc atc gac tct caa ggt gac ctg cta agt aat cat cca gac aac tcc 1536  
 Ala Ile Asp Ser Gln Gly Asp Leu Leu Ser Asn His Pro Asp Asn Ser  
 500 505 510  
 aag tcc aac gct gtg act tgg ggt att ttc ccc ggc aga gaa att ctt 1584  
 Lys Ser Asn Ala Val Thr Trp Gly Ile Phe Pro Gly Arg Glu Ile Leu  
 515 520 525  
 caa cct acc att gtc gag aaa att tcg ttc tta gcg tgg aag gag gag 1632  
 Gln Pro Thr Ile Val Glu Lys Ile Ser Phe Leu Ala Trp Lys Glu Glu  
 530 535 540  
 ttc tat cat atc ttg aat gaa tgg aaa cta aac atg aat aaa tac gat 1680  
 Phe Tyr His Ile Leu Asn Glu Trp Lys Leu Asn Met Asn Lys Tyr Asp  
 545 550 555 560  
 aaa ccg cat agt gcc caa ttc att cag tcc ttg att gac gat tac tgc 1728  
 Lys Pro His Ser Ala Gln Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Asp Tyr Cys  
 565 570 575  
 ttg gtc aat att gtt gac aat gac tac att tct cca gat gat caa atc 1776  
 Leu Val Asn Ile Val Asp Asn Asp Tyr Ile Ser Pro Asp Asp Gln Ile  
 580 585 590  
 cat tcc atc cta cta agc cta taa 1800  
 His Ser Ile Leu Leu Ser Leu  
 595

<210> 24  
 <211> 599  
 <212> PRT  
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 24  
 Met Lys Ile Thr Glu Lys Leu Glu Gln His Arg Gln Thr Ser Gly Lys  
 1 5 10 15  
 Pro Thr Tyr Ser Phe Glu Tyr Phe Val Pro Lys Thr Thr Gln Gly Val  
 20 25 30  
 Gln Asn Leu Tyr Asp Arg Met Asp Arg Met Tyr Glu Ala Ser Leu Pro  
 35 40 45  
 Gln Phe Ile Asp Ile Thr Trp Asn Ala Gly Gly Gly Arg Leu Ser His  
 50 55 60  
 Leu Ser Thr Asp Leu Val Ala Thr Ala Gln Ser Val Leu Gly Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Thr Cys Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Pro Ile Ser Met Ile Asp  
 85 90 95

Asp Ala Leu Glu Asn Ala Tyr His Ser Gly Cys Gln Asn Ile Leu Ala  
 100 105 110  
 Leu Arg Gly Asp Pro Pro Arg Asp Ala Glu Asn Trp Thr Pro Val Glu  
 115 120 125  
 Gly Gly Phe Gln Tyr Ala Lys Asp Leu Ile Lys Tyr Ile Lys Ser Lys  
 130 135 140  
 Tyr Gly Asp His Phe Ala Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Cys His  
 145 150 155 160  
 Pro Glu Leu Pro Asn Lys Asp Val Lys Leu Asp Leu Glu Tyr Leu Ser  
 165 170 175  
 Arg Arg Ser Thr Gly Gly Asp Phe Ile Ile Thr Gln Met Phe Tyr Asp  
 180 185 190  
 Val Asp Asn Leu Leu Asn Trp Cys Ser Gln Val Arg Ala Ala Gly Met  
 195 200 205  
 Asp Val Pro Ile Ile Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Thr Tyr Ala Ala  
 210 215 220  
 Phe Leu Arg Arg Ile Gln Trp Gly Gln Ile Ser Ile Pro Gln His Phe  
 225 230 235 240  
 Ser Ser Arg Leu Asp Pro Ile Lys Asp Asp Asp Glu Leu Val Arg Asp  
 245 250 255  
 Ile Gly Thr Asn Leu Ile Val Glu Met Cys Gln Lys Leu Leu Asp Ser  
 260 265 270  
 Gly Tyr Val Ser His Leu His Ile Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala  
 275 280 285  
 Pro Leu Met Ile Leu Glu Arg Leu Asn Ile Leu Pro Thr Glu Ser Glu  
 290 295 300  
 Phe Asn Ala His Pro Leu Ala Val Leu Pro Trp Arg Lys Ser Leu Asn  
 305 310 315 320  
 Pro Lys Arg Lys Asn Glu Glu Val Arg Pro Ile Phe Trp Lys Arg Arg  
 325 330 335  
 Pro Tyr Ser Tyr Val Ala Arg Thr Ser Gln Trp Ala Val Asp Glu Phe  
 340 345 350  
 Pro Asn Gly Arg Phe Gly Asp Ser Ser Ser Pro Ala Phe Gly Asp Leu  
 355 360 365  
 Asp Leu Cys Gly Ser Asp Leu Ile Arg Gln Ser Ala Asn Lys Cys Leu  
 370 375 380  
 Glu Leu Trp Ser Thr Pro Thr Ser Ile Asn Asp Val Ala Phe Leu Val  
 385 390 395 400  
 Ile Asn Tyr Leu Asn Gly Asn Leu Lys Cys Leu Pro Trp Ser Asp Ile  
 405 410 415

Pro Ile Asn Asp Glu Ile Asn Pro Ile Lys Ala His Leu Ile Glu Leu  
420 425 430

Asn Gln His Ser Ile Ile Thr Ile Asn Ser Gln Pro Gln Val Asn Gly  
435 440 445

Ile Arg Ser Asn Asp Lys Ile His Gly Trp Gly Pro Lys Asp Gly Tyr  
450 455 460

Val Tyr Gln Lys Gln Tyr Leu Glu Phe Met Leu Pro Lys Thr Lys Leu  
465 470 475 480

Pro Lys Leu Ile Asp Thr Leu Lys Asn Asn Glu Phe Leu Thr Tyr Phe  
485 490 495

Ala Ile Asp Ser Gln Gly Asp Leu Leu Ser Asn His Pro Asp Asn Ser  
500 505 510

Lys Ser Asn Ala Val Thr Trp Gly Ile Phe Pro Gly Arg Glu Ile Leu  
515 520 525

Gln Pro Thr Ile Val Glu Lys Ile Ser Phe Leu Ala Trp Lys Glu Glu  
530 535 540

Phe Tyr His Ile Leu Asn Glu Trp Lys Leu Asn Met Asn Lys Tyr Asp  
545 550 555 560

Lys Pro His Ser Ala Gln Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Asp Tyr Cys  
565 570 575

Leu Val Asn Ile Val Asp Asn Asp Tyr Ile Ser Pro Asp Asp Gln Ile  
580 585 590

His Ser Ile Leu Leu Ser Leu  
595

<210> 25

<211> 897

<212> DNA

<213> *Erwinia carotovora*

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (894)

<223> REO00089

<400> 25

atg agc ttt ttt cac gca aac cag cgg gaa gcg ctg aat caa agt ctg 48  
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
1 5 10 15

gcg gaa ttg cag gga cga att aat gtg tca ttt gaa ttt ttc ccg cca 96  
Ala Glu Leu Gln Gly Arg Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
20 25 30

cgt acc agc gat atg gaa gaa acc ctg tgg agc tct atc gat cga ctg 144  
Arg Thr Ser Asp Met Glu Glu Thr Leu Trp Ser Ser Ile Asp Arg Leu  
35 40 45

agc agc ctg aag ccc aag ttt gtt tcc gtg act tac ggg gcg aat tct 192

Ser	Ser	Leu	Lys	Pro	Lys	Phe	Val	Ser	Val	Thr	Tyr	Gly	Ala	Asn	Ser	
50						55					60					
ggc	gag	cgt	gac	cgt	act	cac	agc	att	atc	aaa	acg	att	aaa	gag	cgt	240
Gly	Glu	Arg	Asp	Arg	Thr	His	Ser	Ile	Ile	Lys	Thr	Ile	Lys	Glu	Arg	
65					70				75						80	
acc	ggt	ctg	gaa	gcg	gca	cct	cac	ctg	acc	tgc	atc	gat	gct	tca	cgc	288
Thr	Gly	Leu	Glu	Ala	Ala	Pro	His	Leu	Thr	Cys	Ile	Asp	Ala	Ser	Arg	
				85					90					95		
gaa	cag	ctg	cgt	gaa	atc	gct	cag	gat	tac	tgg	gag	agt	ggg	atc	cgc	336
Glu	Gln	Leu	Arg	Glu	Ile	Ala	Gln	Asp	Tyr	Trp	Glu	Ser	Gly	Ile	Arg	
			100					105					110			
cat	att	gtc	gcg	ctg	cgc	ggc	gac	ttg	cct	caa	gaa	ggc	ggc	aaa	ccg	384
His	Ile	Val	Ala	Leu	Arg	Gly	Asp	Leu	Pro	Gln	Glu	Gly	Gly	Lys	Pro	
		115					120					125				
gac	atg	tac	gcg	gcg	gat	ctg	ggt	tcc	ctg	ctg	aaa	gag	gtc	ggg	gat	432
Asp	Met	Tyr	Ala	Ala	Asp	Leu	Val	Ser	Leu	Leu	Lys	Glu	Val	Gly	Asp	
	130					135					140					
ttc	gat	att	tcc	gtt	gcc	gcc	tat	cct	gaa	gta	cac	cct	gaa	gcg	aaa	480
Phe	Asp	Ile	Ser	Val	Ala	Ala	Tyr	Pro	Glu	Val	His	Pro	Glu	Ala	Lys	
145					150					155					160	
agc	gcg	cag	gct	gac	ctg	att	aac	ctg	aaa	cac	aag	att	gat	gcc	ggc	528
Ser	Ala	Gln	Ala	Asp	Leu	Ile	Asn	Leu	Lys	His	Lys	Ile	Asp	Ala	Gly	
				165					170					175		
gcg	aat	cgc	gct	atc	aca	cag	ttc	ttt	ttc	gac	gta	gaa	agc	tat	ttg	576
Ala	Asn	Arg	Ala	Ile	Thr	Gln	Phe	Phe	Phe	Asp	Val	Glu	Ser	Tyr	Leu	
			180					185						190		
cgg	ttc	cgt	gac	cgc	tgc	gtg	gca	acg	ggc	atc	gat	gta	gaa	att	gtg	624
Arg	Phe	Arg	Asp	Arg	Cys	Val	Ala	Thr	Gly	Ile	Asp	Val	Glu	Ile	Val	
		195					200					205				
ccg	ggc	att	ctg	cca	gta	tgc	aac	ttc	aaa	cag	ttg	cag	aaa	ttt	gcc	672
Pro	Gly	Ile	Leu	Pro	Val	Ser	Asn	Phe	Lys	Gln	Leu	Gln	Lys	Phe	Ala	
	210						215				220					
acg	atg	acc	aac	gtc	cgt	gtg	ccg	aac	tgg	atg	acg	acc	atg	ttt	gac	720
Thr	Met	Thr	Asn	Val	Arg	Val	Pro	Asn	Trp	Met	Thr	Thr	Met	Phe	Asp	
	225				230					235					240	
ggc	ctg	gat	aac	gat	cca	gaa	acc	cgc	aaa	atg	gtg	ggg	gcg	tct	atc	768
Gly	Leu	Asp	Asn	Asp	Pro	Glu	Thr	Arg	Lys	Met	Val	Gly	Ala	Ser	Ile	
				245					250					255		
gcc	atg	gat	atg	gtg	aaa	att	ctc	agc	cgc	gaa	ggc	gta	aaa	gat	ttc	816
Ala	Met	Asp	Met	Val	Lys	Ile	Leu	Ser	Arg	Glu	Gly	Val	Lys	Asp	Phe	
			260					265					270			
cat	ttc	tat	acg	ctg	aac	cgc	gcg	gag	ctg	agc	tat	gcg	att	tgc	cat	864
His	Phe	Tyr	Thr	Leu	Asn	Arg	Ala	Glu	Leu	Ser	Tyr	Ala	Ile	Cys	His	
		275					280					285				
acg	ctg	ggc	gtc	cgc	cct	gat	gta	gca	cgc	tga						897
Thr	Leu	Gly	Val	Arg	Pro	Asp	Val	Ala	Arg							

290

295

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 298

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Erwinia carotovora

&lt;400&gt; 26

Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
 1 5 10 15

Ala Glu Leu Gln Gly Arg Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30

Arg Thr Ser Asp Met Glu Glu Thr Leu Trp Ser Ser Ile Asp Arg Leu  
 35 40 45

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
 50 55 60

Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Thr Ile Lys Glu Arg  
 65 70 75 80

Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg  
 85 90 95

Glu Gln Leu Arg Glu Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Glu Ser Gly Ile Arg  
 100 105 110

His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Gln Glu Gly Gly Lys Pro  
 115 120 125

Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ser Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp  
 130 135 140

Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
 145 150 155 160

Ser Ala Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys His Lys Ile Asp Ala Gly  
 165 170 175

Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180 185 190

Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala Thr Gly Ile Asp Val Glu Ile Val  
 195 200 205

Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Phe Ala  
 210 215 220

Thr Met Thr Asn Val Arg Val Pro Asn Trp Met Thr Thr Met Phe Asp  
 225 230 235 240

Gly Leu Asp Asn Asp Pro Glu Thr Arg Lys Met Val Gly Ala Ser Ile  
 245 250 255

Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260 265 270

His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Leu Ser Tyr Ala Ile Cys His

275

280

285

Thr Leu Gly Val Arg Pro Asp Val Ala Arg  
 290 295

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 888

&lt;212&gt; DNA

<213> *Klebsiella pneumoniae*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (885)

&lt;223&gt; RKP07488

&lt;400&gt; 27

atg agc ttt ttt cac gcc aat cag cgg gaa gcc ctg aat cag agc ctg	48
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu	
1 5 10 15	
gcg gaa gtc cag ggc cag att aat gtg tct ttt gaa ttc ttt ccg ccg	96
Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro	
20 25 30	
cgc acc agt gaa atg gag caa acc ctg tgg aaa tcc atc gat cgc ctg	144
Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Lys Ser Ile Asp Arg Leu	
35 40 45	
agc agt ctg aaa ccg aag ttt gtt tgc gta acc tat ggc gcg aac tct	192
Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser	
50 55 60	
ggc gag cgc gat cgc acc cac agc atc atc aaa ggc att aaa gag cga	240
Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg	
65 70 75 80	
acc ggt ctg gaa gca gcg ccg cac ctg acc tgt atc gat gcc agc cgc	288
Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg	
85 90 95	
gat gag ttg cgc act atc gct cag gat tac tgg aac aac ggt atc cgc	336
Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg	
100 105 110	
cat atc gtc gcc ctg cgc ggc gac ctg ccg ccg ggc agc ggt aaa ccg	384
His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro	
115 120 125	
gat atg tac gcc gcc gat ctg gtg acg ttg ctg aaa gag gta ggc gat	432
Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp	
130 135 140	
ttt gat atc tct gtc gcc gcg tat ccg gaa gtg cat ccg gag gcg aaa	480
Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys	
145 150 155 160	
agc gcg cag gcg gat tta ctg aac ctg aag cgc aaa gta gaa gca ggg	528
Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Glu Ala Gly	
165 170 175	



gcc aac cgc gcg atc acc cag ttc ttc ttc gat gtg gaa agc tac ctg 576  
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180 185 190

cgt ttt cgc gat cgc tgc gtc tcg gca ggc atc gac gtg gaa atc att 624  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
 195 200 205

ccc ggt atc ctg ccg gtc tcc aac ttt aaa cag gcg aaa aag ttt gcg 672  
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
 210 215 220

gat atg acc aac gtc cgt atc ccg gtg tgg atg tca aaa atg ttc gaa 720  
 Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Val Trp Met Ser Lys Met Phe Glu  
 225 230 235 240

ggg ctg gat aac gac gcc gaa acc cgt caa ctg gtg ggg gcg aat atc 768  
 Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Gln Leu Val Gly Ala Asn Ile  
 245 250 255

gcc atg gac atg gtg aag atc tta agc cgg gaa ggg gtc aag gat ttc 816  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260 265 270

cac ttc tac acc ctg aac cgc gcc gag atg agc tac gcc atc tgc cat 864  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
 275 280 285

acg ctg ggc gta cgc ccg gcc tga 888  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Ala  
 290 295

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 295

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Klebsiella pneumoniae

&lt;400&gt; 28

Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
1 5 10 15

Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
20 25 30

Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Lys Ser Ile Asp Arg Leu  
35 40 45

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
50 55 60

Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg  
65 70 75 80

Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg  
85 90 95

Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg  
100 105 110

His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro

115                                      120                                      125  
 Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp  
 130                                      135                                      140  
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
 145                                      150                                      155                                      160  
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Glu Ala Gly  
 165                                      170                                      175  
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180                                      185                                      190  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
 195                                      200                                      205  
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
 210                                      215                                      220  
 Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Val Trp Met Ser Lys Met Phe Glu  
 225                                      230                                      235                                      240  
 Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Gln Leu Val Gly Ala Asn Ile  
 245                                      250                                      255  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260                                      265                                      270  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
 275                                      280                                      285  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Ala  
 290                                      295  
  
 <210> 29  
 <211> 891  
 <212> DNA  
 <213> Salmonella typhi  
  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(888)  
 <223> RTY02485  
  
 <400> 29  
 atg agc ttt ttt cac gcc aac cag cgg gaa gcc ctg aat cag agc ctg      48  
 Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
 1                                      5                                      10                                      15  
 gcg gaa gta cag ggt cag att aac gtt tcg ttt gaa ttt ttc ccg ccg      96  
 Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20                                      25                                      30  
 cgc acc agt gaa atg gag caa acc ctg tgg aac tcc atc gat cgc ctg      144  
 Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu  
 35                                      40                                      45  
 agc agc ctg aaa ccg aag ttt gtt tcg gta acg tat ggc gcc aac tcc      192  
 Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser

50	55	60	
ggg gaa cgt gac cgc act cat agt gtt att aaa ggc att aaa gag cgt			240
Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg			
65	70	75	80
act ggg ctt gag gcc gcg ccg cac ctt acc tgt att gac gcc acg cgc			288
Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg			
	85	90	95
gat gaa ctg cgc acc atc gcc cgc gac tac tgg aat aac ggt atc cgc			336
Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg			
	100	105	110
cac att gtt gct ttg cgc ggc gat ttg ccg ccg ggc agc ggt aag ccg			384
His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro			
	115	120	125
gag atg tac gcc gcc gat ctg gtt ggt ttg ctc aaa gag gtg gtc gat			432
Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Val Asp			
	130	135	140
ttc gat att tca gta gcg gcc tat ccg gag gta cat ccg gaa gcg aaa			480
Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys			
	145	150	155
agc gcg cag gcc gat ctg ctt aat ctg aag cgt aaa gtg gat gct ggc			528
Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly			
	165	170	175
gct aac cgc gcg ata acc caa ttt ttc ttc gat gtg gaa agc tat ctg			576
Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu			
	180	185	190
cgt ttt cgc gac cgc tgt gtt tcc gcc ggt atc gac gta gaa att att			624
Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile			
	195	200	205
ccc ggc att tta ccg gtg tct aac ttt aaa cag gcg aaa aaa ttt gcc			672
Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala			
	210	215	220
gat atg acc aat gtc cgc att ccg tcc tgg atg tgc ctg atg ttt gag			720
Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu			
	225	230	235
ggg ctg gat gat gac gca gaa acc cgc aag ctg gtg ggc gct aac att			768
Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile			
	245	250	255
gcg atg gac atg gtg aaa att tta agc cgc gaa gga gtg aag gat ttc			816
Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe			
	260	265	270
cac ttc tac acg ttg aat cgt gcg gaa atg agt tat gcc att tgc cac			864
His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His			
	275	280	285
acg ctg ggc gta aga ccg ggt tta taa			891
Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu			
	290	295	

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 296

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Salmonella typhi

&lt;400&gt; 30

Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
 1 5 10 15

Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30

Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu  
 35 40 45

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
 50 55 60

Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg  
 65 70 75 80

Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg  
 85 90 95

Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg  
 100 105 110

His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro  
 115 120 125

Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Val Asp  
 130 135 140

Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
 145 150 155 160

Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly  
 165 170 175

Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180 185 190

Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
 195 200 205

Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
 210 215 220

Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu  
 225 230 235 240

Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile  
 245 250 255

Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260 265 270

His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
 275 280 285

Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
290 295

<210> 31

<211> 891

<212> DNA

<213> Salmonella typhimurium

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(888)

<223> RSY00593

<400> 31

atg agc ttt ttt cac gcc aac cag cgg gaa gcc ctg aat cag agc ctg	48
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu	
1 5 10 15	
gcg gaa gta cag ggt cag att aac gtt tcg ttt gaa ttt ttc ccg ccg	96
Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro	
20 25 30	
cgc acc agt gaa atg gag caa acc ctg tgg aac tcc atc gat cgc ctg	144
Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu	
35 40 45	
agc agt ctg aaa ccg aag ttt gtt tcg gta acg tat ggc gcc aac tcc	192
Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser	
50 55 60	
ggg gaa cgc gac cgc acc cat agc gtt att aaa ggc atc aaa gag cgt	240
Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg	
65 70 75 80	
act ggg ctt gag gcc gcg ccg cac ctt acc tgt att gac gcc acg cgc	288
Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg	
85 90 95	
gat gaa ctg cgc acc atc gcc cgc gac tac tgg aat aac ggt atc cgc	336
Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg	
100 105 110	
cac att gtc gct ttg cgc ggc gat ttg ccg ccg ggc agc ggt aag ccg	384
His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro	
115 120 125	
gag atg tac gcc gcc gat ctg gtt ggt ttg ctc aaa gag gtg gcc gat	432
Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp	
130 135 140	
ttc gat att tca gta gcg gcc tat ccg gag gta cat ccg gaa gcg aaa	480
Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys	
145 150 155 160	
agc gcg cag gcc gat ctg ctt aat ctg aag cgt aaa gtg gat gct ggc	528
Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly	
165 170 175	
gct aac cgc gcg ata acc caa ttt ttc ttc gat gtg gaa agc tac ctg	576

Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
 180 185 190

cgt ttt cgc gac cgc tgt gtt tct gcc ggt atc gac gta gaa att att 624  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
 195 200 205

ccc ggc att tta ccg gtg tct aac ttt aaa cag gca aaa aaa ttt gcc 672  
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
 210 215 220

gat atg acc aat gtc cgc att ccg tcc tgg atg tca ctg atg ttt gag 720  
 Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu  
 225 230 235 240

ggg ctg gat aat gac gca gaa acc cgc aag ctg gtg ggc gct aac att 768  
 Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile  
 245 250 255

gcg atg gac atg gtg aaa att tta agc cgt gaa gga gtg aag gat ttc 816  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
 260 265 270

cac ttc tac acg ttg aat cgt gcg gaa atg agt tat gcc att tgc cac 864  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
 275 280 285

acg ctg ggc gta aga ccg ggt tta taa 891  
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
 290 295

<210> 32  
 <211> 296  
 <212> PRT  
 <213> Salmonella typhimurium

<400> 32  
 Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
 1 5 10 15

Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30

Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu  
 35 40 45

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
 50 55 60

Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg  
 65 70 75 80

Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg  
 85 90 95

Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg  
 100 105 110

His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro  
 115 120 125

Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp  
130 135 140

Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
145 150 155 160

Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly  
165 170 175

Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
180 185 190

Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
195 200 205

Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
210 215 220

Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu  
225 230 235 240

Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile  
245 250 255

Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
260 265 270

His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
275 280 285

Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
290 295

<210> 33

<211> 891

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(888)

<223> REC03839

<400> 33

atg agc ttt ttt cac gcc agc cag cgg gat gcc ctg aat cag agc ctg 48  
Met Ser Phe Phe His Ala Ser Gln Arg Asp Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
1 5 10 15

gca gaa gtc cag ggg cag att aac gtt tcg ttc gag ttt ttc ccg ccg 96  
Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
20 25 30

cgt acc agt gaa atg gag cag acc ctg tgg aac tcc atc gat cgc ctt 144  
Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu  
35 40 45

agc agc ctg aaa ccg aag ttt gta tcg gtg acc tat ggc gcg aac tcc 192  
Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser

50	55	60	
ggc gag cgc gac cgt acg cac agc att att aaa ggc att aaa gat cgc Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Asp Arg 65 70 75 80			240
act ggt ctg gaa gcg gca ccg cat ctt act tgc att gat gcg acg ccc Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Pro 85 90 95			288
gac gag ctg cgc acc att gca cgc gac tac tgg aat aac ggt att cgt Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg 100 105 110			336
cat atc gtg gcg ctg cgt ggc gat ctg ccg ccg gga agt ggt aag cca His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro 115 120 125			384
gaa atg tat gct tct gac ctg gtg acg ctg tta aaa gaa gtg gca gat Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp 130 135 140			432
ttc gat atc tcc gtg gcg gcg tat ccg gaa gtt cac ccg gaa gca aaa Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys 145 150 155 160			480
agc gct cag gcg gat ttg ctt aat ctg aaa cgc aaa gtg gat gcc gga Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly 165 170 175			528
gcc aac cgc gcg att act cag ttc ttc ttc gat gtc gaa agc tac ctg Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu 180 185 190			576
cgt ttt cgt gac cgc tgt gta tgc gcg ggc att gat gtg gaa att att Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile 195 200 205			624
ccg gga att ttg ccg gta tct aac ttt aaa cag gcg aag aaa ttt gcc Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala 210 215 220			672
gat atg acc aac gtg cgt att ccg gcg tgg atg gcg caa atg ttc gac Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ala Trp Met Ala Gln Met Phe Asp 225 230 235 240			720
ggt ctg gat gat gat gcc gaa acc cgc aaa ctg gtt ggc gcg aat att Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile 245 250 255			768
gcc atg gat atg gtg aag att tta agc cgt gaa gga gtg aaa gat ttc Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe 260 265 270			816
cac ttc tat acg ctt aac cgt gct gaa atg agt tac gcg att tgc cat His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His 275 280 285			864
acg ctg ggg gtt cga cct ggt tta taa Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu 290 295			891



<210> 34  
 <211> 296  
 <212> PRT  
 <213> Escherichia coli

<400> 34  
 Met Ser Phe Phe His Ala Ser Gln Arg Asp Ala Leu Asn Gln Ser Leu  
     1                    5                    10                    15  
 Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
                     20                    25                    30  
 Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu  
             35                    40                    45  
 Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser  
     50                    55                    60  
 Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Asp Arg  
     65                    70                    75                    80  
 Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Pro  
                     85                    90                    95  
 Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg  
             100                    105                    110  
 His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro  
     115                    120                    125  
 Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp  
     130                    135                    140  
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys  
     145                    150                    155                    160  
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly  
                     165                    170                    175  
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu  
             180                    185                    190  
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile  
     195                    200                    205  
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala  
     210                    215                    220  
 Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ala Trp Met Ala Gln Met Phe Asp  
     225                    230                    235                    240  
 Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile  
                     245                    250                    255  
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe  
             260                    265                    270  
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His  
     275                    280                    285

Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu  
290 295

<210> 35  
<211> 915  
<212> DNA  
<213> *Vibrio cholerae*

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(912)  
<223> RVC06433

<400> 35  
gtg aca ctc ggt cac agg gag tac aag atg gga tac aca cac gct agc 48  
Val Thr Leu Gly His Arg Glu Tyr Lys Met Gly Tyr Thr His Ala Ser  
1 5 10 15  
cat atc gat gca ttg aac caa aac att gcg gag ctt tcc gac atc aat 96  
His Ile Asp Ala Leu Asn Gln Asn Ile Ala Glu Leu Ser Asp Ile Asn  
20 25 30  
gtt tcg ttt gag ttt ttt cca ccc agc tca cca caa atg gaa gaa acg 144  
Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Ser Ser Pro Gln Met Glu Glu Thr  
35 40 45  
ctt tgg gga tcg gta cac cgt ctg aaa aca ctc caa ccg aaa ttt gtt 192  
Leu Trp Gly Ser Val His Arg Leu Lys Thr Leu Gln Pro Lys Phe Val  
50 55 60  
tcg gtc act tat ggt gca aac tct ggt gag cgt gac cgt act cac tcg 240  
Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser  
65 70 75 80  
atc att aaa gcg atc aaa gat caa acc ggt tta att gcc gcg cca cac 288  
Ile Ile Lys Ala Ile Lys Asp Gln Thr Gly Leu Ile Ala Ala Pro His  
85 90 95  
ctg act tgt atc gat gcc act cgt gat gaa ctg atc cag atc gcc gat 336  
Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg Asp Glu Leu Ile Gln Ile Ala Asp  
100 105 110  
gac tac tgg cat aac ggc atc cag aat att gtg gcg ctg cgt ggg gat 384  
Asp Tyr Trp His Asn Gly Ile Gln Asn Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp  
115 120 125  
atc ccg gct ggc ggt ggt aag cca gag atg tac gcc tcc gat cta gtg 432  
Ile Pro Ala Gly Gly Gly Lys Pro Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val  
130 135 140  
acg ctg ctc aaa tca cgc cac gat ttt gat att tcc gtg gcc gcc ttc 480  
Thr Leu Leu Lys Ser Arg His Asp Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Phe  
145 150 155 160  
cct gaa gtg cac cct gaa gcc aaa agc gcg caa gcg gac ctg ctc aat 528  
Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn  
165 170 175  
tta aaa cgt aaa gtc gat gca ggt gcg aat cgt gcc atc acg cag ttt 576

Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe  
 180 185 190  
 ttc ttt gat gta gaa agc tac ctg cgt ttt cgc gat cgc tgt gtg gcc 624  
 Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala  
 195 200 205  
 gct ggg att gac gta gaa atc gtg cct ggc att ctg ccg gtt tct aac 672  
 Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn  
 210 215 220  
 ttt aaa caa gcg tcg cgc ttc gct gcg caa aac aac gtc aaa gtt ccg 720  
 Phe Lys Gln Ala Ser Arg Phe Ala Ala Gln Asn Asn Val Lys Val Pro  
 225 230 235 240  
 aat tgg atg gtg aag cag ttt gaa gga tta gaa gac gat cca gtg act 768  
 Asn Trp Met Val Lys Gln Phe Glu Gly Leu Glu Asp Asp Pro Val Thr  
 245 250 255  
 cgc cag ttg gta ggt gca agc caa gcc att gat atg gtg cgc gtg ctg 816  
 Arg Gln Leu Val Gly Ala Ser Gln Ala Ile Asp Met Val Arg Val Leu  
 260 265 270  
 tgc cgt gaa ggg gtg aag gat ttc cac ttc tac acc cta aat cgt gcc 864  
 Cys Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala  
 275 280 285  
 gaa atg act tac gcg tta tgc cac acc tta ggc gtt cgc cca caa gct 912  
 Glu Met Thr Tyr Ala Leu Cys His Thr Leu Gly Val Arg Pro Gln Ala  
 290 295 300  
 taa 915

<210> 36  
 <211> 304  
 <212> PRT  
 <213> *Vibrio cholerae*

<400> 36  
 Val Thr Leu Gly His Arg Glu Tyr Lys Met Gly Tyr Thr His Ala Ser  
 1 5 10 15  
 His Ile Asp Ala Leu Asn Gln Asn Ile Ala Glu Leu Ser Asp Ile Asn  
 20 25 30  
 Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Ser Ser Pro Gln Met Glu Glu Thr  
 35 40 45  
 Leu Trp Gly Ser Val His Arg Leu Lys Thr Leu Gln Pro Lys Phe Val  
 50 55 60  
 Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser  
 65 70 75 80  
 Ile Ile Lys Ala Ile Lys Asp Gln Thr Gly Leu Ile Ala Ala Pro His  
 85 90 95  
 Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg Asp Glu Leu Ile Gln Ile Ala Asp  
 100 105 110

Asp Tyr Trp His Asn Gly Ile Gln Asn Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp  
 115 120 125  
 Ile Pro Ala Gly Gly Gly Lys Pro Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val  
 130 135 140  
 Thr Leu Leu Lys Ser Arg His Asp Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Phe  
 145 150 155 160  
 Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn  
 165 170 175  
 Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe  
 180 185 190  
 Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala  
 195 200 205  
 Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn  
 210 215 220  
 Phe Lys Gln Ala Ser Arg Phe Ala Ala Gln Asn Asn Val Lys Val Pro  
 225 230 235 240  
 Asn Trp Met Val Lys Gln Phe Glu Gly Leu Glu Asp Asp Pro Val Thr  
 245 250 255  
 Arg Gln Leu Val Gly Ala Ser Gln Ala Ile Asp Met Val Arg Val Leu  
 260 265 270  
 Cys Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala  
 275 280 285  
 Glu Met Thr Tyr Ala Leu Cys His Thr Leu Gly Val Arg Pro Gln Ala  
 290 295 300

<210> 37  
 <211> 879  
 <212> DNA  
 <213> Haemophilus influenzae

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(876)  
 <223> RHI06620

<400> 37  
 atg agc tac gcg aaa gaa att gat aca tta aat caa cat att gca gat 48  
 Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Thr Leu Asn Gln His Ile Ala Asp  
 1 5 10 15  
 ttt aat aaa aaa att aat gtc tcc ttt gaa ttt ttt cca cct aaa aac 96  
 Phe Asn Lys Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn  
 20 25 30  
 gaa aaa atg gaa acc ctt cta tgg gat tca att cat cgt tta aaa gta 144  
 Glu Lys Met Glu Thr Leu Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Lys Val

35										40										45										
tta	aag	cct	aaa	ttt	gtg	tca	gtc	act	tac	ggt	gca	aat	tcg	gga	gaa	192														
Leu	Lys	Pro	Lys	Phe	Val	Ser	Val	Thr	Tyr	Gly	Ala	Asn	Ser	Gly	Glu															
50					55					60																				
cgt	gac	cgc	act	cac	ggc	att	gtg	aaa	gcc	att	aaa	caa	gaa	act	ggc	240														
Arg	Asp	Arg	Thr	His	Gly	Ile	Val	Lys	Ala	Ile	Lys	Gln	Glu	Thr	Gly															
65					70					75					80															
tta	gaa	gcc	gca	cca	cat	tta	act	gga	att	gat	gcc	aca	cct	gaa	gaa	288														
Leu	Glu	Ala	Ala	Pro	His	Leu	Thr	Gly	Ile	Asp	Ala	Thr	Pro	Glu	Glu															
85					90					95																				
tta	aaa	caa	att	gcg	aga	gat	tat	tgg	gat	agt	ggt	att	cgc	cgt	att	336														
Leu	Lys	Gln	Ile	Ala	Arg	Asp	Tyr	Trp	Asp	Ser	Gly	Ile	Arg	Arg	Ile															
100					105					110																				
gtt	gcg	tta	cgc	ggt	gac	gaa	cct	aaa	ggt	tac	gcg	aaa	aaa	cca	ttt	384														
Val	Ala	Leu	Arg	Gly	Asp	Glu	Pro	Lys	Gly	Tyr	Ala	Lys	Lys	Pro	Phe															
115					120					125																				
tat	gcg	tca	gat	ctt	gtg	gaa	tta	ctc	cgt	tct	gtc	gct	gat	ttt	gat	432														
Tyr	Ala	Ser	Asp	Leu	Val	Glu	Leu	Leu	Arg	Ser	Val	Ala	Asp	Phe	Asp															
130					135					140																				
att	tct	gta	gcc	gct	tat	ccc	gaa	ggt	cat	cca	gaa	gca	aaa	tcc	gca	480														
Ile	Ser	Val	Ala	Ala	Tyr	Pro	Glu	Val	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Ser	Ala															
145					150					155					160															
caa	gca	gac	tta	att	aat	tta	aaa	cgt	aaa	att	gat	gca	ggt	gca	aac	528														
Gln	Ala	Asp	Leu	Ile	Asn	Leu	Lys	Arg	Lys	Ile	Asp	Ala	Gly	Ala	Asn															
165					170					175																				
cac	gtc	att	aca	caa	ttt	ttc	ttt	gat	att	gaa	aac	tac	cta	cgt	ttt	576														
His	Val	Ile	Thr	Gln	Phe	Phe	Phe	Asp	Ile	Glu	Asn	Tyr	Leu	Arg	Phe															
180					185					190																				
cgt	gat	cgt	tgt	gca	tca	att	ggt	att	gat	act	gaa	atc	gta	ccc	ggt	624														
Arg	Asp	Arg	Cys	Ala	Ser	Ile	Gly	Ile	Asp	Thr	Glu	Ile	Val	Pro	Gly															
195					200					205																				
att	tta	cct	gtt	act	aat	ttt	aaa	caa	ctc	caa	aaa	atg	gca	tca	ttc	672														
Ile	Leu	Pro	Val	Thr	Asn	Phe	Lys	Gln	Leu	Gln	Lys	Met	Ala	Ser	Phe															
210					215					220																				
act	aat	gtg	aaa	att	cca	gcg	tgg	tta	gtt	aaa	gcc	tat	gat	ggt	ttg	720														
Thr	Asn	Val	Lys	Ile	Pro	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Ala	Tyr	Asp	Gly	Leu															
225					230					235					240															
gat	aat	gat	cca	act	aca	cgt	aat	ctt	gtg	gca	gca	agt	gtt	gca	atg	768														
Asp	Asn	Asp	Pro	Thr	Thr	Arg	Asn	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Val	Ala	Met															
245					250					255																				
gat	atg	gta	aaa	att	tta	tct	cgc	gaa	ggc	gtg	aat	gac	ttc	cac	ttt	816														
Asp	Met	Val	Lys	Ile	Leu	Ser	Arg	Glu	Gly	Val	Asn	Asp	Phe	His	Phe															
260					265					270																				
tat	aca	tta	aat	cgt	agt	gaa	tta	act	tat	gct	atc	tgt	cat	atg	tta	864														
Tyr	Thr	Leu	Asn	Arg	Ser	Glu	Leu	Thr	Tyr	Ala	Ile	Cys	His	Met	Leu															
275					280					285																				

ggt gta aga cct taa  
Gly Val Arg Pro  
290

879

<210> 38  
<211> 292  
<212> PRT  
<213> Haemophilus influenzae

<400> 38  
Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Thr Leu Asn Gln His Ile Ala Asp  
1 5 10 15

Phe Asn Lys Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn  
20 25 30

Glu Lys Met Glu Thr Leu Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Lys Val  
35 40 45

Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu  
50 55 60

Arg Asp Arg Thr His Gly Ile Val Lys Ala Ile Lys Gln Glu Thr Gly  
65 70 75 80

Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Pro Glu Glu  
85 90 95

Leu Lys Gln Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile  
100 105 110

Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Ala Lys Lys Pro Phe  
115 120 125

Tyr Ala Ser Asp Leu Val Glu Leu Leu Arg Ser Val Ala Asp Phe Asp  
130 135 140

Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala  
145 150 155 160

Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn  
165 170 175

His Val Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Ile Glu Asn Tyr Leu Arg Phe  
180 185 190

Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Thr Glu Ile Val Pro Gly  
195 200 205

Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ser Phe  
210 215 220

Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Leu Val Lys Ala Tyr Asp Gly Leu  
225 230 235 240

Asp Asn Asp Pro Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Val Ala Met  
245 250 255

Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Asn Asp Phe His Phe  
 260 265 270

Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Met Leu  
 275 280 285

Gly Val Arg Pro  
 290

<210> 39

<211> 945

<212> DNA

<213> *Caulobacter crescentus*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(942)

<223> RCO02274

<400> 39

atg acc ctt ccg ccc acc cgc cgc gtg atc ggt ccc gtc gcc cga gcc 48  
 Met Thr Leu Pro Pro Thr Arg Arg Val Ile Gly Pro Val Ala Arg Ala  
 1 5 10 15

ggc gag cgg acc ggc cgt ccg cgc gtg tcg ttc gag ttc ttc ccg ccc 96  
 Gly Glu Arg Thr Gly Arg Pro Arg Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30

aag act ccg cag atg gaa gag agc ctg tgg cag gcg atc aca cgc ctg 144  
 Lys Thr Pro Gln Met Glu Glu Ser Leu Trp Gln Ala Ile Thr Arg Leu  
 35 40 45

gcg ccg ctg gat ccg gcc ttc gtc tcg gtg acc tat ggc gcg ggc ggc 192  
 Ala Pro Leu Asp Pro Ala Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly  
 50 55 60

tcc acc cgc gag cgc acc cac cgc acc gtc aag cgg atc ctg gac gag 240  
 Ser Thr Arg Glu Arg Thr His Arg Thr Val Lys Arg Ile Leu Asp Glu  
 65 70 75 80

acc agc ctc aag ccc gcc gcg cac ctg acc tgc gtc ggc gcc agt cgc 288  
 Thr Ser Leu Lys Pro Ala Ala His Leu Thr Cys Val Gly Ala Ser Arg  
 85 90 95

gaa gag gtc gat gag gtc att cgc gag tac tgg gag acc ggg gtc cgt 336  
 Glu Glu Val Asp Glu Val Ile Arg Glu Tyr Trp Glu Thr Gly Val Arg  
 100 105 110

cac atc gtt tcg ctg cgg ggc gat ccg ccg ccc ggc gag ggc ggc atc 384  
 His Ile Val Ser Leu Arg Gly Asp Pro Pro Pro Gly Glu Gly Gly Ile  
 115 120 125

ggc ggg gtc tat gtg ccg cgc gcc gac ggc tac gcc aac gcc aca gag 432  
 Gly Gly Val Tyr Val Pro Arg Ala Asp Gly Tyr Ala Asn Ala Thr Glu  
 130 135 140

ttg acc aag gcc gtg cgc gcg atc gcg ccg ttc gag gtg ctg gtc ggg 480  
 Leu Thr Lys Ala Val Arg Ala Ile Ala Pro Phe Glu Val Leu Val Gly  
 145 150 155 160

gtc tat ccc gag aag cat ccc gag agc ccc tcg ttg gag cac gac atc 528  
 Val Tyr Pro Glu Lys His Pro Glu Ser Pro Ser Leu Glu His Asp Ile  
 165 170 175

gac gtc ttg aag cag aag gtc gac gcc gcc gcg acg ctg ggg atc agc 576  
 Asp Val Leu Lys Gln Lys Val Asp Ala Gly Ala Thr Leu Gly Ile Ser  
 180 185 190

cag ttc ttc ttc gac ctc gac gcc ttc ctg cgc ttc gtc gac aag gtg 624  
 Gln Phe Phe Phe Asp Leu Asp Ala Phe Leu Arg Phe Val Asp Lys Val  
 195 200 205

cgc gcg gcg gcc atc acc att ccg atc gtg ccg ggg atc atg ccg gtg 672  
 Arg Ala Ala Gly Ile Thr Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Val  
 210 215 220

acc aat ttc gcg gcc ttg aag aag atg gcc gcc gcc tgc cag acg gcc 720  
 Thr Asn Phe Ala Gly Leu Lys Lys Met Ala Ala Ala Cys Gln Thr Ala  
 225 230 235 240

atc ccg tcc tgg ctg ggg aac ctg ttc gac ggg ctg gag aac gac gcg 768  
 Ile Pro Ser Trp Leu Gly Asn Leu Phe Asp Gly Leu Glu Asn Asp Ala  
 245 250 255

gag acc cgc cgc ctg atc gcc tgt tcg gtg gcc gcc gag atg tgc gcc 816  
 Glu Thr Arg Arg Leu Ile Ala Cys Ser Val Ala Ala Glu Met Cys Ala  
 260 265 270

aag ctg cag gaa cag ggt ttc gag gac ttc cac ttc tac acc ctg aac 864  
 Lys Leu Gln Glu Gln Gly Phe Glu Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn  
 275 280 285

cgg gcc gat ctc gtt tac gcc atc tgc cgt gtg ctg gcc gtg cgc gag 912  
 Arg Ala Asp Leu Val Tyr Ala Ile Cys Arg Val Leu Gly Val Arg Glu  
 290 295 300

atc tcg ccc gcc gct tcg gag gtc gcc gca tga 945  
 Ile Ser Pro Ala Ala Ser Glu Val Ala Ala  
 305 310

<210> 40  
 <211> 314  
 <212> PRT  
 <213> *Caulobacter crescentus*

<400> 40  
 Met Thr Leu Pro Pro Thr Arg Arg Val Ile Gly Pro Val Ala Arg Ala  
 1 5 10 15

Gly Glu Arg Thr Gly Arg Pro Arg Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro  
 20 25 30

Lys Thr Pro Gln Met Glu Glu Ser Leu Trp Gln Ala Ile Thr Arg Leu  
 35 40 45

Ala Pro Leu Asp Pro Ala Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly  
 50 55 60

Ser Thr Arg Glu Arg Thr His Arg Thr Val Lys Arg Ile Leu Asp Glu  
 65 70 75 80



Thr Ser Leu Lys Pro Ala Ala His Leu Thr Cys Val Gly Ala Ser Arg  
                     85                    90                    95  
 Glu Glu Val Asp Glu Val Ile Arg Glu Tyr Trp Glu Thr Gly Val Arg  
                     100                    105                    110  
 His Ile Val Ser Leu Arg Gly Asp Pro Pro Pro Gly Glu Gly Gly Ile  
                     115                    120                    125  
 Gly Gly Val Tyr Val Pro Arg Ala Asp Gly Tyr Ala Asn Ala Thr Glu  
                     130                    135                    140  
 Leu Thr Lys Ala Val Arg Ala Ile Ala Pro Phe Glu Val Leu Val Gly  
                     145                    150                    155                    160  
 Val Tyr Pro Glu Lys His Pro Glu Ser Pro Ser Leu Glu His Asp Ile  
                     165                    170                    175  
 Asp Val Leu Lys Gln Lys Val Asp Ala Gly Ala Thr Leu Gly Ile Ser  
                     180                    185                    190  
 Gln Phe Phe Phe Asp Leu Asp Ala Phe Leu Arg Phe Val Asp Lys Val  
                     195                    200                    205  
 Arg Ala Ala Gly Ile Thr Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Val  
                     210                    215                    220  
 Thr Asn Phe Ala Gly Leu Lys Lys Met Ala Ala Ala Cys Gln Thr Ala  
                     225                    230                    235                    240  
 Ile Pro Ser Trp Leu Gly Asn Leu Phe Asp Gly Leu Glu Asn Asp Ala  
                     245                    250                    255  
 Glu Thr Arg Arg Leu Ile Ala Cys Ser Val Ala Ala Glu Met Cys Ala  
                     260                    265                    270  
 Lys Leu Gln Glu Gln Gly Phe Glu Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn  
                     275                    280                    285  
 Arg Ala Asp Leu Val Tyr Ala Ile Cys Arg Val Leu Gly Val Arg Glu  
                     290                    295                    300  
 Ile Ser Pro Ala Ala Ser Glu Val Ala Ala  
                     305                    310

<210> 41  
 <211> 885  
 <212> DNA  
 <213> Actinobacillus actinomycetemcomitans

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(882)

<223> RAB00260

<400> 41  
 atg agt tac gca aaa gaa att gat aat cta aat caa cat tta gct gat 48  
 Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Asn Leu Asn Gln His Leu Ala Asp

1	5	10	15	
tta aac ggc aaa att aat gtc tct ttt gaa ttt ttc ccg ccg aaa agt				96
Leu Asn Gly Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Ser	20	25	30	
gaa aaa atg gaa aat ctt ctg tgg gaa tcc atc cat cgc tta aaa gtg				144
Glu Lys Met Glu Asn Leu Leu Trp Glu Ser Ile His Arg Leu Lys Val	35	40	45	
cta aaa ccg aaa ttt gta tcc gtg act tac ggc gcc aat tcc ggc gag				192
Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu	50	55	60	
cgt gaa cgc act cac ggg gtg gtg aaa cgc att aag cag gaa acc ggt				240
Arg Glu Arg Thr His Gly Val Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly	65	70	75	80
ctg gaa gct gcg ccg cat tta acc ggt att gac gct acc tcg gac gaa				288
Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Ser Asp Glu	85	90	95	
ttg cgt cgc att gcc aaa ggt tat tgg gat agc ggc att cgt cgc att				336
Leu Arg Arg Ile Ala Lys Gly Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile	100	105	110	
gtg gca ctg cgc ggt gac gag ccg aaa ggc tac gag aaa aaa cca ttt				384
Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe	115	120	125	
tat gcc gcc gat tta gta gca tta tta cgt gac gta tca gat ttt gat				432
Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ala Leu Leu Arg Asp Val Ser Asp Phe Asp	130	135	140	
att tcc gtg gcg gca tac cct gag gtt cat ccg gaa gcc aaa tcg gcg				480
Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala	145	150	155	160
caa gcg gat tta att aat tta aaa cgt aaa att gat gcc ggt gcc aat				528
Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn	165	170	175	
cat gtg atc aca caa ttc ttt ttc gat att gac agc tat ctg cgg ttc				576
His Val Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Ile Asp Ser Tyr Leu Arg Phe	180	185	190	
cgc gat cgc tgc gcg tct atc ggt att gat gca gaa atc gtg ccg ggg				624
Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Ala Glu Ile Val Pro Gly	195	200	205	
att ctg ccg gtg acc aac ttc aaa caa tta caa aaa atg gca gca atc				672
Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ala Ile	210	215	220	
act aat gtg aaa att cca gct tgg atg agc aaa atg tat gaa ggc ttg				720
Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Met Ser Lys Met Tyr Glu Gly Leu	225	230	235	240
gat gat gac caa acc acc cgc aat ctg gtg gcg gcg agc atc gcc atg				768
Asp Asp Asp Gln Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Met	245	250	255	

gac atg gtg cgt gta ctg tcc cgc gaa ggg gta aaa gac ttt cat ttc 816  
 Asp Met Val Arg Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe  
                   260                                  265                                  270

tac acc ctg aat cgc agt gaa ctc acc tat gct att tgc cac acg tta 864  
 Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Thr Leu  
                   275                                  280                                  285

ggc att cgt ccg agt ttg taa 885  
 Gly Ile Arg Pro Ser Leu  
                   290

<210> 42

<211> 294

<212> PRT

<213> Actinobacillus actinomycetemcomitans

<400> 42

Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Asn Leu Asn Gln His Leu Ala Asp  
           1                                  5                                  10                                  15

Leu Asn Gly Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Ser  
                   20                                  25                                  30

Glu Lys Met Glu Asn Leu Leu Trp Glu Ser Ile His Arg Leu Lys Val  
                   35                                  40                                  45

Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu  
                   50                                  55                                  60

Arg Glu Arg Thr His Gly Val Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly  
                   65                                  70                                  75                                  80

Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Ser Asp Glu  
                                   85                                  90                                  95

Leu Arg Arg Ile Ala Lys Gly Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile  
                   100                                  105                                  110

Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe  
                   115                                  120                                  125

Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ala Leu Leu Arg Asp Val Ser Asp Phe Asp  
                   130                                  135                                  140

Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala  
                   145                                  150                                  155                                  160

Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn  
                                   165                                  170                                  175

His Val Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Ile Asp Ser Tyr Leu Arg Phe  
                   180                                  185                                  190

Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Ala Glu Ile Val Pro Gly  
                   195                                  200                                  205

Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ala Ile  
                   210                                  215                                  220

Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Met Ser Lys Met Tyr Glu Gly Leu  
 225 230 235 240

Asp Asp Asp Gln Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Met  
 245 250 255

Asp Met Val Arg Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe  
 260 265 270

Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Thr Leu  
 275 280 285

Gly Ile Arg Pro Ser Leu  
 290

<210> 43

<211> 867

<212> DNA

<213> Rhodobacter

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (864)

<223> RRC03981

<400> 43

atg acc acg ccg cat gtc agc ttt gaa ttc ttc ccg ccg cag acg ctc 48  
 Met Thr Thr Pro His Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Gln Thr Leu  
 1 5 10 15

gac gcc tcg ttc ccg ctg tgg gag acg gcg cag gtt ctg gcg ccg ctc 96  
 Asp Ala Ser Phe Arg Leu Trp Glu Thr Ala Gln Val Leu Ala Pro Leu  
 20 25 30

aag ccc ggc ttc gtc tcg gtc acc tat ggc gcg ggc ggc acc acc cgc 144  
 Lys Pro Gly Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Thr Thr Arg  
 35 40 45

aag ctg acg cat gag gcc gtg gcg gcg atc cac aag aat tac ggc ctg 192  
 Lys Leu Thr His Glu Ala Val Ala Ala Ile His Lys Asn Tyr Gly Leu  
 50 55 60

aac gtc gcc gcg cat ctg acc tgc gtc gat gcg acc ccg gcc gaa acg 240  
 Asn Val Ala Ala His Leu Thr Cys Val Asp Ala Thr Arg Ala Glu Thr  
 65 70 75 80

caa gag atc atc gac gcc tat gcc gag gct ggc gtc acc gag att gtc 288  
 Gln Glu Ile Ile Asp Ala Tyr Ala Glu Ala Gly Val Thr Glu Ile Val  
 85 90 95

gcg ctg cgc ggt gat ccg ccg aaa ggc gcc gcc cgc ttc acg ccg cat 336  
 Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Lys Gly Ala Ala Arg Phe Thr Pro His  
 100 105 110

ccg gac ggg ttt gcc tcc tcg gtg gac ctc atc gaa tgg ctg gcg ccg 384  
 Pro Asp Gly Phe Ala Ser Ser Val Asp Leu Ile Glu Trp Leu Ala Arg  
 115 120 125

gac ggc cgc ttc acg ctg cgc tgc ggc gcc tat ccg gaa ccg cat ccg 432

Asp Gly Arg Phe Thr Leu Arg Cys Gly Ala Tyr Pro Glu Pro His Pro  
 130 135 140

gaa gcc gcc gac acg ctg gcc gac gtg cgc tgg ctg aaa cgc aaa tgc 480  
 Glu Ala Ala Asp Thr Leu Ala Asp Val Arg Trp Leu Lys Arg Lys Cys  
 145 150 155 160

gag gcg ggg gcg acc tcg gcg atc acg caa ttc ttc ttt gaa gcc gag 528  
 Glu Ala Gly Ala Thr Ser Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Glu Ala Glu  
 165 170 175

acc ttc ttc cgc ttc cgc gac gcc tgc gtg aag gaa ggg atc acc gcc 576  
 Thr Phe Phe Arg Phe Arg Asp Ala Cys Val Lys Glu Gly Ile Thr Ala  
 180 185 190

aag atc atc ccg ggc atc ctg ccg atc cag tcc tgg aaa ggc gcc aag 624  
 Lys Ile Ile Pro Gly Ile Leu Pro Ile Gln Ser Trp Lys Gly Ala Lys  
 195 200 205

agc ttt gcg cag cgc tgc ggc acc tcg atc ccg acc tgg gtc gaa gag 672  
 Ser Phe Ala Gln Arg Cys Gly Thr Ser Ile Pro Thr Trp Val Glu Glu  
 210 215 220

gcc ttt gac cat gcg atc cgc gac gac cgc gaa cag ctg ctg gcc acg 720  
 Ala Phe Asp His Ala Ile Arg Asp Asp Arg Glu Gln Leu Leu Ala Thr  
 225 230 235 240

gcg ctg tgc acg gag ctc tgc gac aac ctg atc gcg ggc ggg gtg gag 768  
 Ala Leu Cys Thr Glu Leu Cys Asp Asn Leu Ile Ala Gly Gly Val Glu  
 245 250 255

gat ctg cat ttc tac acg ctg aac cgg ccg cag atg acc cgc gat gtc 816  
 Asp Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Pro Gln Met Thr Arg Asp Val  
 260 265 270

tgc cat gcg ctg ggc gtc aac ccg ggt gtg gtg ctg gaa aac gtc gcc 864  
 Cys His Ala Leu Gly Val Asn Pro Gly Val Val Leu Glu Asn Val Ala  
 275 280 285

tga 867

<210> 44  
 <211> 288  
 <212> PRT  
 <213> Rhodobacter

<400> 44  
 Met Thr Thr Pro His Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Gln Thr Leu  
 1 5 10 15

Asp Ala Ser Phe Arg Leu Trp Glu Thr Ala Gln Val Leu Ala Pro Leu  
 20 25 30

Lys Pro Gly Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Thr Thr Arg  
 35 40 45

Lys Leu Thr His Glu Ala Val Ala Ala Ile His Lys Asn Tyr Gly Leu  
 50 55 60

Asn Val Ala Ala His Leu Thr Cys Val Asp Ala Thr Arg Ala Glu Thr

60

65                      70                      75                      80  
 Gln Glu Ile Ile Asp Ala Tyr Ala Glu Ala Gly Val Thr Glu Ile Val  
                                  85                                   90                                   95  
 Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Lys Gly Ala Ala Arg Phe Thr Pro His  
                                  100                                   105                                   110  
 Pro Asp Gly Phe Ala Ser Ser Val Asp Leu Ile Glu Trp Leu Ala Arg  
                                  115                                   120                                   125  
 Asp Gly Arg Phe Thr Leu Arg Cys Gly Ala Tyr Pro Glu Pro His Pro  
                                  130                                   135                                   140  
 Glu Ala Ala Asp Thr Leu Ala Asp Val Arg Trp Leu Lys Arg Lys Cys  
                                  145                                   150                                   155                                   160  
 Glu Ala Gly Ala Thr Ser Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Glu Ala Glu  
                                  165                                   170                                   175  
 Thr Phe Phe Arg Phe Arg Asp Ala Cys Val Lys Glu Gly Ile Thr Ala  
                                  180                                   185                                   190  
 Lys Ile Ile Pro Gly Ile Leu Pro Ile Gln Ser Trp Lys Gly Ala Lys  
                                  195                                   200                                   205  
 Ser Phe Ala Gln Arg Cys Gly Thr Ser Ile Pro Thr Trp Val Glu Glu  
                                  210                                   215                                   220  
 Ala Phe Asp His Ala Ile Arg Asp Asp Arg Glu Gln Leu Leu Ala Thr  
                                  225                                   230                                   235                                   240  
 Ala Leu Cys Thr Glu Leu Cys Asp Asn Leu Ile Ala Gly Gly Val Glu  
                                  245                                   250                                   255  
 Asp Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Pro Gln Met Thr Arg Asp Val  
                                  260                                   265                                   270  
 Cys His Ala Leu Gly Val Asn Pro Gly Val Val Leu Glu Asn Val Ala  
                                  275                                   280                                   285

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 879

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Neisseria meningitidis ser. A

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(876)

&lt;223&gt; RNM00812

&lt;400&gt; 45

atg aat tac gca aaa gaa atc aat gcg tta aat aac agc ctt tcc gat    48  
 Met Asn Tyr Ala Lys Glu Ile Asn Ala Leu Asn Asn Ser Leu Ser Asp  
   1                      5                      10                      15

ttg aaa ggc gac atc aac gtt tcg ttt gaa ttt ttt cca ccg aaa aac    96

Leu	Lys	Gly	Asp	Ile	Asn	Val	Ser	Phe	Glu	Phe	Phe	Pro	Pro	Lys	Asn	
			20					25					30			
gag	caa	atg	gaa	acg	atg	ctg	tgg	gat	tcc	atc	cac	cgt	ctg	caa	acc	144
Glu	Gln	Met	Glu	Thr	Met	Leu	Trp	Asp	Ser	Ile	His	Arg	Leu	Gln	Thr	
		35					40					45				
ctg	cat	ccc	aag	ttc	gta	tcc	gta	acc	tac	ggc	gca	aac	tcc	ggc	gaa	192
Leu	His	Pro	Lys	Phe	Val	Ser	Val	Thr	Tyr	Gly	Ala	Asn	Ser	Gly	Glu	
	50					55					60					
cgc	gac	cgc	acg	cac	ggc	atc	gtc	aaa	cgc	atc	aaa	cag	gaa	acc	ggc	240
Arg	Asp	Arg	Thr	His	Gly	Ile	Val	Lys	Arg	Ile	Lys	Gln	Glu	Thr	Gly	
65					70				75						80	
ttg	gaa	gca	gca	ccg	cac	ctg	acc	ggc	atc	gac	gca	tcc	ccc	gac	gaa	288
Leu	Glu	Ala	Ala	Pro	His	Leu	Thr	Gly	Ile	Asp	Ala	Ser	Pro	Asp	Glu	
				85					90					95		
ttg	cgc	caa	atc	gcc	aaa	gac	tat	tgg	gac	agc	ggc	atc	cgc	cgc	att	336
Leu	Arg	Gln	Ile	Ala	Lys	Asp	Tyr	Trp	Asp	Ser	Gly	Ile	Arg	Arg	Ile	
		100					105						110			
gtc	gcc	ctg	cgt	ggc	gac	gag	ccg	ccc	ggg	tat	gag	aaa	aaa	ccg	ttt	384
Val	Ala	Leu	Arg	Gly	Asp	Glu	Pro	Pro	Gly	Tyr	Glu	Lys	Lys	Pro	Phe	
		115					120					125				
tac	gcc	gaa	gac	ttg	gtt	aag	cta	tta	cgc	tcc	gtc	gcc	gac	ttc	gac	432
Tyr	Ala	Glu	Asp	Leu	Val	Lys	Leu	Leu	Arg	Ser	Val	Ala	Asp	Phe	Asp	
	130					135					140					
atc	tct	gtg	gcg	gca	tat	ccc	gaa	gtg	cat	ccc	gaa	gcc	aaa	tcc	gca	480
Ile	Ser	Val	Ala	Ala	Tyr	Pro	Glu	Val	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Ser	Ala	
145					150					155					160	
caa	gcc	gat	ctg	att	aat	ctg	aag	cgc	aaa	atc	gat	gcg	ggg	gca	aac	528
Gln	Ala	Asp	Leu	Ile	Asn	Leu	Lys	Arg	Lys	Ile	Asp	Ala	Gly	Ala	Asn	
				165					170					175		
cac	gtc	atc	acc	caa	ttt	ttc	ttt	gac	gta	gaa	cgc	tac	ctg	cgc	ttc	576
His	Val	Ile	Thr	Gln	Phe	Phe	Phe	Asp	Val	Glu	Arg	Tyr	Leu	Arg	Phe	
			180					185					190			
cgc	gac	cgc	tgc	gtg	atg	ttg	ggg	atc	gat	gtg	gaa	atc	gtc	cct	ggg	624
Arg	Asp	Arg	Cys	Val	Met	Leu	Gly	Ile	Asp	Val	Glu	Ile	Val	Pro	Gly	
		195					200					205				
att	ttg	cct	gtt	acc	aac	ttc	aag	cag	ctc	ggc	aaa	atg	gcg	caa	gta	672
Ile	Leu	Pro	Val	Thr	Asn	Phe	Lys	Gln	Leu	Gly	Lys	Met	Ala	Gln	Val	
	210					215					220					
acc	aac	gtc	aaa	atc	cca	agc	tgg	ctg	tcg	caa	atg	tat	gaa	ggg	ttg	720
Thr	Asn	Val	Lys	Ile	Pro	Ser	Trp	Leu	Ser	Gln	Met	Tyr	Glu	Gly	Leu	
225					230					235					240	
gac	gac	gac	caa	ggc	acg	cgc	aac	ctc	gtc	gcc	gcc	agt	atc	gcc	atc	768
Asp	Asp	Asp	Gln	Gly	Thr	Arg	Asn	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Ile	Ala	Ile	
				245					250					255		
gat	atg	gtc	aaa	gtc	ctg	tcc	cgc	gaa	ggc	gtg	aaa	gat	ttc	cac	ttc	816
Asp	Met	Val	Lys	Val	Leu	Ser	Arg	Glu	Gly	Val	Lys	Asp	Phe	His	Phe	

260

265

270

tac acg ctc aac cgc agc gag ctg act tac gcc atc tgc cat att tta 864  
 Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Ile Leu  
           275                                  280                                  285

ggc gtg cgc cct taa  
 Gly Val Arg Pro 879  
           290

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 292

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Neisseria meningitidis ser. A

&lt;400&gt; 46

Met Asn Tyr Ala Lys Glu Ile Asn Ala Leu Asn Asn Ser Leu Ser Asp  
   1                                  5                                  10                                  15

Leu Lys Gly Asp Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn  
           20                                  25                                  30

Glu Gln Met Glu Thr Met Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Gln Thr  
           35                                  40                                  45

Leu His Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu  
           50                                  55                                  60

Arg Asp Arg Thr His Gly Ile Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly  
           65                                  70                                  75                                  80

Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Ser Pro Asp Glu  
           85                                  90                                  95

Leu Arg Gln Ile Ala Lys Asp Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile  
           100                                  105                                  110

Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Pro Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe  
           115                                  120                                  125

Tyr Ala Glu Asp Leu Val Lys Leu Leu Arg Ser Val Ala Asp Phe Asp  
           130                                  135                                  140

Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala  
           145                                  150                                  155                                  160

Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn  
           165                                  170                                  175

His Val Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Arg Tyr Leu Arg Phe  
           180                                  185                                  190

Arg Asp Arg Cys Val Met Leu Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly  
           195                                  200                                  205

Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gly Lys Met Ala Gln Val  
           210                                  215                                  220

Thr Asn Val Lys Ile Pro Ser Trp Leu Ser Gln Met Tyr Glu Gly Leu  
           225                                  230                                  235                                  240



Asp Asp Asp Gln Gly Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Ile  
245 250 255

Asp Met Val Lys Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe  
260 265 270

Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Ile Leu  
275 280 285

Gly Val Arg Pro  
290

<210> 47

<211> 849

<212> DNA

<213> Campylobacter jejuni

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(846)

<223> RCJ02911

<400> 47

atg tgt agt ttt tct ttt gaa gtt ttt cca cca aga aag gat gaa aat 48  
Met Cys Ser Phe Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Arg Lys Asp Glu Asn  
1 5 10 15

atc aaa aat ctt cat gct atc tta gat gat tta ggg caa tta agc cct 96  
Ile Lys Asn Leu His Ala Ile Leu Asp Asp Leu Gly Gln Leu Ser Pro  
20 25 30

aat ttt atc agc gta acc ttt gga gct gga ggc tct att aac tca caa 144  
Asn Phe Ile Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gln  
35 40 45

aat act tta gaa gtt gca agc tta atc cag gaa gaa tat caa att cct 192  
Asn Thr Leu Glu Val Ala Ser Leu Ile Gln Glu Glu Tyr Gln Ile Pro  
50 55 60

agc ata gta cat tta cct tgc atc cat tct agt aaa gaa aaa atc act 240  
Ser Ile Val His Leu Pro Cys Ile His Ser Ser Lys Glu Lys Ile Thr  
65 70 75 80

cag ata ctt caa aaa tgc aaa gaa aaa aat ctt aat caa att ctt gcc 288  
Gln Ile Leu Gln Lys Cys Lys Glu Lys Asn Leu Asn Gln Ile Leu Ala  
85 90 95

cta aga ggc gat ata tgt gaa aat tta aaa aaa agc aaa gat ttt tct 336  
Leu Arg Gly Asp Ile Cys Glu Asn Leu Lys Lys Ser Lys Asp Phe Ser  
100 105 110

tat gct agt gat tta att tct ttt ata aaa aaa caa gaa tac ttt gaa 384  
Tyr Ala Ser Asp Leu Ile Ser Phe Ile Lys Lys Gln Glu Tyr Phe Glu  
115 120 125

att tat gcc gca tgc tat ccc gaa aaa cat aat gaa tct aaa aat ttc 432  
Ile Tyr Ala Ala Cys Tyr Pro Glu Lys His Asn Glu Ser Lys Asn Phe  
130 135 140

atc gag gat ata cac cat ctt aaa act aag gta aat gca gga aca gat 480  
 Ile Glu Asp Ile His His Leu Lys Thr Lys Val Asn Ala Gly Thr Asp  
 145 150 155 160

aag ctc att act caa ctt ttt tac gat aat gaa gat ttt tat act ttt 528  
 Lys Leu Ile Thr Gln Leu Phe Tyr Asp Asn Glu Asp Phe Tyr Thr Phe  
 165 170 175

aaa caa aat tgt gct tta gca gat att gac ata cct att tac gca ggt 576  
 Lys Gln Asn Cys Ala Leu Ala Asp Ile Asp Ile Pro Ile Tyr Ala Gly  
 180 185 190

att atg cct att act aac aaa aga cag gtt tta aaa att tct caa ctt 624  
 Ile Met Pro Ile Thr Asn Lys Arg Gln Val Leu Lys Ile Ser Gln Leu  
 195 200 205

tgc gga gct aaa atc cct cct aaa ttt gtt aaa att tta gaa aaa tat 672  
 Cys Gly Ala Lys Ile Pro Pro Lys Phe Val Lys Ile Leu Glu Lys Tyr  
 210 215 220

gaa aat aat act ttg gct tta gaa gat gca ggt atc gcg tat gct tgc 720  
 Glu Asn Asn Thr Leu Ala Leu Glu Asp Ala Gly Ile Ala Tyr Ala Cys  
 225 230 235 240

gat caa att gtc gat tta atc aca agt ggt gta gat gga att cat ctt 768  
 Asp Gln Ile Val Asp Leu Ile Thr Ser Gly Val Asp Gly Ile His Leu  
 245 250 255

tat act atg aat aaa tcc aaa gcg gct att aaa att tat gaa gct gta 816  
 Tyr Thr Met Asn Lys Ser Lys Ala Ala Ile Lys Ile Tyr Glu Ala Val  
 260 265 270

aag cat ttg ctt aaa gaa gag ctt cat gct tag 849  
 Lys His Leu Leu Lys Glu Glu Leu His Ala  
 275 280

<210> 48  
 <211> 282  
 <212> PRT  
 <213> Campylobacter jejuni

<400> 48  
 Met Cys Ser Phe Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Arg Lys Asp Glu Asn  
 1 5 10 15  
 Ile Lys Asn Leu His Ala Ile Leu Asp Asp Leu Gly Gln Leu Ser Pro  
 20 25 30  
 Asn Phe Ile Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gln  
 35 40 45  
 Asn Thr Leu Glu Val Ala Ser Leu Ile Gln Glu Glu Tyr Gln Ile Pro  
 50 55 60  
 Ser Ile Val His Leu Pro Cys Ile His Ser Ser Lys Glu Lys Ile Thr  
 65 70 75 80  
 Gln Ile Leu Gln Lys Cys Lys Glu Lys Asn Leu Asn Gln Ile Leu Ala  
 85 90 95

Leu Arg Gly Asp Ile Cys Glu Asn Leu Lys Lys Ser Lys Asp Phe Ser  
 100 105 110

Tyr Ala Ser Asp Leu Ile Ser Phe Ile Lys Lys Gln Glu Tyr Phe Glu  
 115 120 125

Ile Tyr Ala Ala Cys Tyr Pro Glu Lys His Asn Glu Ser Lys Asn Phe  
 130 135 140

Ile Glu Asp Ile His His Leu Lys Thr Lys Val Asn Ala Gly Thr Asp  
 145 150 155 160

Lys Leu Ile Thr Gln Leu Phe Tyr Asp Asn Glu Asp Phe Tyr Thr Phe  
 165 170 175

Lys Gln Asn Cys Ala Leu Ala Asp Ile Asp Ile Pro Ile Tyr Ala Gly  
 180 185 190

Ile Met Pro Ile Thr Asn Lys Arg Gln Val Leu Lys Ile Ser Gln Leu  
 195 200 205

Cys Gly Ala Lys Ile Pro Pro Lys Phe Val Lys Ile Leu Glu Lys Tyr  
 210 215 220

Glu Asn Asn Thr Leu Ala Leu Glu Asp Ala Gly Ile Ala Tyr Ala Cys  
 225 230 235 240

Asp Gln Ile Val Asp Leu Ile Thr Ser Gly Val Asp Gly Ile His Leu  
 245 250 255

Tyr Thr Met Asn Lys Ser Lys Ala Ala Ile Lys Ile Tyr Glu Ala Val  
 260 265 270

Lys His Leu Leu Lys Glu Glu Leu His Ala  
 275 280

<210> 49

<211> 852

<212> DNA

<213> Lactococcus lactis

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (849)

<223> AAK05352

<400> 49

atg aca agt aat tcc aaa att ctt tct ttt gaa gtt ttt cca cct aca 48  
 Met Thr Ser Asn Ser Lys Ile Leu Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Thr  
 1 5 10 15

act caa att gga agt acc aac ttg gta aag acc ttg gat agc cta aga 96  
 Thr Gln Ile Gly Ser Thr Asn Leu Val Lys Thr Leu Asp Ser Leu Arg  
 20 25 30

act ctc tcg cca gat ttt atc agt gta act tgt agt aac aat aat tat 144  
 Thr Leu Ser Pro Asp Phe Ile Ser Val Thr Cys Ser Asn Asn Asn Tyr  
 35 40 45

gat aat att gga gat aca act ata aag ttt gct gat tat gta aac aat	192
Asp Asn Ile Gly Asp Thr Ile Lys Phe Ala Asp Tyr Val Asn Asn	
50 55 60	
aca cta gat att cca gcg gtt gct cat tta cct gcc gct tat tta gat	240
Thr Leu Asp Ile Pro Ala Val Ala His Leu Pro Ala Ala Tyr Leu Asp	
65 70 75 80	
aaa gct caa gtg atc gaa att ttg gaa cgg tta aaa gat aaa caa atc	288
Lys Ala Gln Val Ile Glu Ile Leu Glu Arg Leu Lys Asp Lys Gln Ile	
85 90 95	
aaa aaa att ctt gct tta aga ggt gat atc agc gat gaa ccg atg aaa	336
Lys Lys Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Ile Ser Asp Glu Pro Met Lys	
100 105 110	
gat gat ttt aaa ttt gca agt gat ttg gtt aaa ttt atc aaa gat tat	384
Asp Asp Phe Lys Phe Ala Ser Asp Leu Val Lys Phe Ile Lys Asp Tyr	
115 120 125	
gat gat agt ttt gaa gtt tta ggt gct tgc tac ccc gat att cat ccc	432
Asp Asp Ser Phe Glu Val Leu Gly Ala Cys Tyr Pro Asp Ile His Pro	
130 135 140	
gaa tca gta aat cga gtg agt gat ttt cat tat ctg aaa gaa aaa gta	480
Glu Ser Val Asn Arg Val Ser Asp Phe His Tyr Leu Lys Glu Lys Val	
145 150 155 160	
gat gct ggt tgt gac aga tta atc acg caa cta ttt ttt gat aat gat	528
Asp Ala Gly Cys Asp Arg Leu Ile Thr Gln Leu Phe Phe Asp Asn Asp	
165 170 175	
agt ttc tat gat ttt caa gaa cga tgc gca att gct gag ata aat act	576
Ser Phe Tyr Asp Phe Gln Glu Arg Cys Ala Ile Ala Glu Ile Asn Thr	
180 185 190	
ccg ata ttc gcc gga ata atg cca gta atc aat cga aat caa att ctt	624
Pro Ile Phe Ala Gly Ile Met Pro Val Ile Asn Arg Asn Gln Ile Leu	
195 200 205	
cgt cta tta aaa aat tgt aat acg cca tta cca gca aaa ttc att aga	672
Arg Leu Leu Lys Asn Cys Asn Thr Pro Leu Pro Ala Lys Phe Ile Arg	
210 215 220	
ata ctc gaa aaa tat gaa cat aat ctt atc gct tta agg gat gct gga	720
Ile Leu Glu Lys Tyr Glu His Asn Leu Ile Ala Leu Arg Asp Ala Gly	
225 230 235 240	
att gct tac gcc atc gat caa atc gtt gat tta gta aca gag gat gtt	768
Ile Ala Tyr Ala Ile Asp Gln Ile Val Asp Leu Val Thr Glu Asp Val	
245 250 255	
gct gga att cac ctc tat acg atg aat aat gca aat acg gca cac tcc	816
Ala Gly Ile His Leu Tyr Thr Met Asn Asn Ala Asn Thr Ala His Ser	
260 265 270	
atc cat gct tca att tct tct tta ttt acc ttt tga	852
Ile His Ala Ser Ile Ser Ser Leu Phe Thr Phe	
275 280	

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 283

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Lactococcus lactis

&lt;400&gt; 50

Met Thr Ser Asn Ser Lys Ile Leu Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Thr  
 1 5 10 15

Thr Gln Ile Gly Ser Thr Asn Leu Val Lys Thr Leu Asp Ser Leu Arg  
 20 25 30

Thr Leu Ser Pro Asp Phe Ile Ser Val Thr Cys Ser Asn Asn Asn Tyr  
 35 40 45

Asp Asn Ile Gly Asp Thr Thr Ile Lys Phe Ala Asp Tyr Val Asn Asn  
 50 55 60

Thr Leu Asp Ile Pro Ala Val Ala His Leu Pro Ala Ala Tyr Leu Asp  
 65 70 75 80

Lys Ala Gln Val Ile Glu Ile Leu Glu Arg Leu Lys Asp Lys Gln Ile  
 85 90 95

Lys Lys Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Ile Ser Asp Glu Pro Met Lys  
 100 105 110

Asp Asp Phe Lys Phe Ala Ser Asp Leu Val Lys Phe Ile Lys Asp Tyr  
 115 120 125

Asp Asp Ser Phe Glu Val Leu Gly Ala Cys Tyr Pro Asp Ile His Pro  
 130 135 140

Glu Ser Val Asn Arg Val Ser Asp Phe His Tyr Leu Lys Glu Lys Val  
 145 150 155 160

Asp Ala Gly Cys Asp Arg Leu Ile Thr Gln Leu Phe Phe Asp Asn Asp  
 165 170 175

Ser Phe Tyr Asp Phe Gln Glu Arg Cys Ala Ile Ala Glu Ile Asn Thr  
 180 185 190

Pro Ile Phe Ala Gly Ile Met Pro Val Ile Asn Arg Asn Gln Ile Leu  
 195 200 205

Arg Leu Leu Lys Asn Cys Asn Thr Pro Leu Pro Ala Lys Phe Ile Arg  
 210 215 220

Ile Leu Glu Lys Tyr Glu His Asn Leu Ile Ala Leu Arg Asp Ala Gly  
 225 230 235 240

Ile Ala Tyr Ala Ile Asp Gln Ile Val Asp Leu Val Thr Glu Asp Val  
 245 250 255

Ala Gly Ile His Leu Tyr Thr Met Asn Asn Ala Asn Thr Ala His Ser  
 260 265 270

Ile His Ala Ser Ile Ser Ser Leu Phe Thr Phe  
 275 280

<210> 51  
 <211> 891  
 <212> DNA  
 <213> *Prochlorococcus maritima*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1) .. (888)  
 <223> RCK01602

<400> 51  
 ttg aaa tca aaa ctt cag caa act tta gaa aag aat tca aaa gta att 48  
 Leu Lys Ser Lys Leu Gln Gln Thr Leu Glu Lys Asn Ser Lys Val Ile  
     1                    5                    10                    15

aca gca gaa tta atg ccg cca aga gga gga gac ccc gta aga tct ctt 96  
 Thr Ala Glu Leu Met Pro Pro Arg Gly Gly Asp Pro Val Arg Ser Leu  
                     20                    25                    30

aaa ata gca caa ctc ttg aga aat aag gtg cat gca gtt aat att aca 144  
 Lys Ile Ala Gln Leu Leu Arg Asn Lys Val His Ala Val Asn Ile Thr  
                     35                    40                    45

gac gga agt aga gca ata atg aga atg tgt agt tta gca atg tct aaa 192  
 Asp Gly Ser Arg Ala Ile Met Arg Met Cys Ser Leu Ala Met Ser Lys  
                     50                    55                    60

cta tta cta gac aat ggg ata gaa cct ata atg cag atc tca tgt aga 240  
 Leu Leu Leu Asp Asn Gly Ile Glu Pro Ile Met Gln Ile Ser Cys Arg  
                     65                    70                    75                    80

gat cgt aat aaa att gct tta caa tca gat att ctt gga gca aat gcc 288  
 Asp Arg Asn Lys Ile Ala Leu Gln Ser Asp Ile Leu Gly Ala Asn Ala  
                     85                    90                    95

tta gga att aaa aat att tta tgc att aca gga gat tct gta aaa gcc 336  
 Leu Gly Ile Lys Asn Ile Leu Cys Ile Thr Gly Asp Ser Val Lys Ala  
                     100                    105                    110

gga gat cag caa gaa aca aaa gcc gtt cat gaa ttt gag gca gta aga 384  
 Gly Asp Gln Gln Glu Thr Lys Ala Val His Glu Phe Glu Ala Val Arg  
                     115                    120                    125

tta tta aaa caa att caa tca ttc aat caa gga att gat cct act ttt 432  
 Leu Leu Lys Gln Ile Gln Ser Phe Asn Gln Gly Ile Asp Pro Thr Phe  
                     130                    135                    140

gaa caa ctt cca gac aaa agg act gaa att ttc tca ggt gcg gca gta 480  
 Glu Gln Leu Pro Asp Lys Arg Thr Glu Ile Phe Ser Gly Ala Ala Val  
                     145                    150                    155                    160

gat cca agt tgt cga aat caa aga agt tta aaa agt aga aca att aaa 528  
 Asp Pro Ser Cys Arg Asn Gln Arg Ser Leu Lys Ser Arg Thr Ile Lys  
                     165                    170                    175

aaa aaa gag gcc ggt gca aat ttc tta caa act caa ata gtt atg gat 576  
 Lys Lys Glu Ala Gly Ala Asn Phe Leu Gln Thr Gln Ile Val Met Asp  
                     180                    185                    190

aga aaa tgt tta gca gac ttt tgc aac gaa atc agt aat cca ctt gag 624

Arg Lys Cys Leu Ala Asp Phe Cys Asn Glu Ile Ser Asn Pro Leu Glu  
 195 200 205

ata cca gtt att gca gga gta ttt ctt tta aaa tca tat aaa aat gct 672  
 Ile Pro Val Ile Ala Gly Val Phe Leu Leu Lys Ser Tyr Lys Asn Ala  
 210 215 220

ctt ttc ata aat aaa ttt gta cct gga gcg aat att cct gaa aat gtt 720  
 Leu Phe Ile Asn Lys Phe Val Pro Gly Ala Asn Ile Pro Glu Asn Val  
 225 230 235 240

tta aat cgt ctc aaa gat gca aaa aat cca ctt caa gaa gga ata tta 768  
 Leu Asn Arg Leu Lys Asp Ala Lys Asn Pro Leu Gln Glu Gly Ile Leu  
 245 250 255

att gct tca gag caa gct caa gat ttt att aat att gca gat gga att 816  
 Ile Ala Ser Glu Gln Ala Gln Asp Phe Ile Asn Ile Ala Asp Gly Ile  
 260 265 270

cat ctt atg gca gtc aaa tca gaa cat ctt atc cca gag ata ctt gaa 864  
 His Leu Met Ala Val Lys Ser Glu His Leu Ile Pro Glu Ile Leu Glu  
 275 280 285

aaa gct ggt ctc aat ctg gaa tgt taa 891  
 Lys Ala Gly Leu Asn Leu Glu Cys  
 290 295

<210> 52  
 <211> 296  
 <212> PRT  
 <213> Prochlorococcus maritima

<400> 52  
 Leu Lys Ser Lys Leu Gln Gln Thr Leu Glu Lys Asn Ser Lys Val Ile  
 1 5 10 15

Thr Ala Glu Leu Met Pro Pro Arg Gly Gly Asp Pro Val Arg Ser Leu  
 20 25 30

Lys Ile Ala Gln Leu Leu Arg Asn Lys Val His Ala Val Asn Ile Thr  
 35 40 45

Asp Gly Ser Arg Ala Ile Met Arg Met Cys Ser Leu Ala Met Ser Lys  
 50 55 60

Leu Leu Leu Asp Asn Gly Ile Glu Pro Ile Met Gln Ile Ser Cys Arg  
 65 70 75 80

Asp Arg Asn Lys Ile Ala Leu Gln Ser Asp Ile Leu Gly Ala Asn Ala  
 85 90 95

Leu Gly Ile Lys Asn Ile Leu Cys Ile Thr Gly Asp Ser Val Lys Ala  
 100 105 110

Gly Asp Gln Gln Glu Thr Lys Ala Val His Glu Phe Glu Ala Val Arg  
 115 120 125

Leu Leu Lys Gln Ile Gln Ser Phe Asn Gln Gly Ile Asp Pro Thr Phe  
 130 135 140

Glu Gln Leu Pro Asp Lys Arg Thr Glu Ile Phe Ser Gly Ala Ala Val  
 145 150 155 160  
 Asp Pro Ser Cys Arg Asn Gln Arg Ser Leu Lys Ser Arg Thr Ile Lys  
 165 170 175  
 Lys Lys Glu Ala Gly Ala Asn Phe Leu Gln Thr Gln Ile Val Met Asp  
 180 185 190  
 Arg Lys Cys Leu Ala Asp Phe Cys Asn Glu Ile Ser Asn Pro Leu Glu  
 195 200 205  
 Ile Pro Val Ile Ala Gly Val Phe Leu Leu Lys Ser Tyr Lys Asn Ala  
 210 215 220  
 Leu Phe Ile Asn Lys Phe Val Pro Gly Ala Asn Ile Pro Glu Asn Val  
 225 230 235 240  
 Leu Asn Arg Leu Lys Asp Ala Lys Asn Pro Leu Gln Glu Gly Ile Leu  
 245 250 255  
 Ile Ala Ser Glu Gln Ala Gln Asp Phe Ile Asn Ile Ala Asp Gly Ile  
 260 265 270  
 His Leu Met Ala Val Lys Ser Glu His Leu Ile Pro Glu Ile Leu Glu  
 275 280 285  
 Lys Ala Gly Leu Asn Leu Glu Cys  
 290 295

<210> 53  
 <211> 1848  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus stearothermophilus*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1845)  
 <223> RBE04103

<400> 53  
 gtg gga ttg ctg gat gag ttg aaa gag cgc att ctc atc gcc gac ggg 48  
 Val Gly Leu Leu Asp Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Ile Ala Asp Gly  
 1 5 10 15  
 gcg atg gga acg ctt tta tat tcg cac ggc att gac cgt tgt ttt gaa 96  
 Ala Met Gly Thr Leu Leu Tyr Ser His Gly Ile Asp Arg Cys Phe Glu  
 20 25 30  
 gaa ttg aat cta tcc aat cca gat gaa atc gtc cat att cat gaa gcg 144  
 Glu Leu Asn Leu Ser Asn Pro Asp Glu Ile Val His Ile His Glu Ala  
 35 40 45  
 tat atc gcc gcg ggc gcc gac gtc att cag acg aat aca tac ggc gcc 192  
 Tyr Ile Ala Ala Gly Ala Asp Val Ile Gln Thr Asn Thr Tyr Gly Ala  
 50 55 60  
 aac tat gtg aaa ctc gcc cgc tac ggc ctt gaa gat gag gtg ccg gcc 240  
 Asn Tyr Val Lys Leu Ala Arg Tyr Gly Leu Glu Asp Glu Val Pro Ala



65	70	75	80	
atc aac cgc gcg gcg gtg cgg ctc gcc agg caa gcg gcg aac gga cgg Ile Asn Arg Ala Ala Val Arg Leu Ala Arg Gln Ala Ala Asn Gly Arg 85 90 95				288
gca tac gtg ctc ggg acg atc ggg ggg ctg cgc acg tta aac aaa agc Ala Tyr Val Leu Gly Thr Ile Gly Gly Leu Arg Thr Leu Asn Lys Ser 100 105 110				336
gtc gtc acg ctc gaa gaa gtg aag cgg acg ttt cgc gag cag ctg ttt Val Val Thr Leu Glu Glu Val Lys Arg Thr Phe Arg Glu Gln Leu Phe 115 120 125				384
gtc ctg ctc gct gaa ggg gtc gac ggc gtg ctg ctc gag acg tat tac Val Leu Leu Ala Glu Gly Val Asp Gly Val Leu Leu Glu Thr Tyr Tyr 130 135 140				432
gat ttg gaa gag ttg gag acg gtg ctt gcc atc gcc cgc aaa gag acc Asp Leu Glu Glu Leu Glu Thr Val Leu Ala Ile Ala Arg Lys Glu Thr 145 150 155 160				480
gac ttg ccg att atc gct cac gtc tcg ctc cat gaa gtc ggc gtc ttg Asp Leu Pro Ile Ile Ala His Val Ser Leu His Glu Val Gly Val Leu 165 170 175				528
caa gat ggc acg ccg ctc gcg gac gcc ctt gcc cgc cta gag gcg ctc Gln Asp Gly Thr Pro Leu Ala Asp Ala Leu Ala Arg Leu Glu Ala Leu 180 185 190				576
ggg gcc gat gtc gtc gga ctg aac tgt cgt ctc ggt cca tat cat atg Gly Ala Asp Val Val Gly Leu Asn Cys Arg Leu Gly Pro Tyr His Met 195 200 205				624
ctt cgg tcg ctc gag gaa gtg ccg ctg cca aat cga gcg ttt ttg tcg Leu Arg Ser Leu Glu Glu Val Pro Leu Pro Asn Arg Ala Phe Leu Ser 210 215 220				672
gcg tat ccg aac gcc agc ctt ccg gat tac cgc gat ggg cgg ctt gtc Ala Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Pro Asp Tyr Arg Asp Gly Arg Leu Val 225 230 235 240				720
tat gag acg aac gct gaa tat ttc gag gaa acg gcc aaa gcg ttc cgc Tyr Glu Thr Asn Ala Glu Tyr Phe Glu Glu Thr Ala Lys Ala Phe Arg 245 250 255				768
gac caa ggg gtg cgc ttg atc ggc ggg tgc tgc ggc acg acg ccg aaa Asp Gln Gly Val Arg Leu Ile Gly Gly Cys Cys Gly Thr Thr Pro Lys 260 265 270				816
cat atc gaa gcg atg gca aaa gcg ctc tcc gac cga acg ccg gtg acg His Ile Glu Ala Met Ala Lys Ala Leu Ser Asp Arg Thr Pro Val Thr 275 280 285				864
gaa aaa acg gtg aaa cgg cgc gcg gtg tct gta tca gtg caa gcg gag Glu Lys Thr Val Lys Arg Arg Ala Val Ser Val Ser Val Gln Ala Glu 290 295 300				912
cgg ccc gcc cca tct ccc ctt ccc gag ctt gcc cgc acg cac cgc tcg Arg Pro Ala Pro Ser Pro Leu Pro Glu Leu Ala Arg Thr His Arg Ser 305 310 315 320				960

gtc att gtg gag ctg gat ccg ccg aaa aaa ttg ggg att gac aag ttt	1008
Val Ile Val Glu Leu Asp Pro Pro Lys Lys Leu Gly Ile Asp Lys Phe	
325 330 335	
ctt gcc ggg gcg aaa gcg ctc cat gac gcc ggc atc gat gcg ctg acg	1056
Leu Ala Gly Ala Lys Ala Leu His Asp Ala Gly Ile Asp Ala Leu Thr	
340 345 350	
ttg gcc gac aac tcg ctc gcc acg ccg cgc atc agc aac gcc gct gtc	1104
Leu Ala Asp Asn Ser Leu Ala Thr Pro Arg Ile Ser Asn Ala Ala Val	
355 360 365	
gcc acg atc atc aag gag caa ctc ggc atc cgc ccg ctc gtg cat att	1152
Ala Thr Ile Ile Lys Glu Gln Leu Gly Ile Arg Pro Leu Val His Ile	
370 375 380	
aca tgc cgc gat cgc aat ttg atc ggc ttg cag tcg cat ttg atg ggc	1200
Thr Cys Arg Asp Arg Asn Leu Ile Gly Leu Gln Ser His Leu Met Gly	
385 390 395 400	
ttg cat acg ctc ggc atc acc gat gtg ctc gcc att acc ggc gac ccg	1248
Leu His Thr Leu Gly Ile Thr Asp Val Leu Ala Ile Thr Gly Asp Pro	
405 410 415	
tcg aaa atc ggc gat ttt cca ggg gca acg tcc gtg tac gac tta tca	1296
Ser Lys Ile Gly Asp Phe Pro Gly Ala Thr Ser Val Tyr Asp Leu Ser	
420 425 430	
tcg ttc gat ttg atc cgc ttg atc cgc cag ttt aac gaa ggg ctg tcg	1344
Ser Phe Asp Leu Ile Arg Leu Ile Arg Gln Phe Asn Glu Gly Leu Ser	
435 440 445	
tac tcg ggc aaa ccg ctt ggg caa aaa acg aac ttc tcg atc ggc gct	1392
Tyr Ser Gly Lys Pro Leu Gly Gln Lys Thr Asn Phe Ser Ile Gly Ala	
450 455 460	
gcg ttc aac ccg aac gtc cgc cat ttg gac aaa gcg gtc gag cgg atg	1440
Ala Phe Asn Pro Asn Val Arg His Leu Asp Lys Ala Val Glu Arg Met	
465 470 475 480	
gag aaa aaa atc caa tgc ggc gcc cat tat ttc ttg acc cag ccg att	1488
Glu Lys Lys Ile Gln Cys Gly Ala His Tyr Phe Leu Thr Gln Pro Ile	
485 490 495	
tac tcg gaa gag aaa atc gtt gaa gtg cac gaa gcg acc aag cat ctt	1536
Tyr Ser Glu Glu Lys Ile Val Glu Val His Glu Ala Thr Lys His Leu	
500 505 510	
gac acg ccg att tac atc ggc att atg ccg ctt gtg agc gcg cgc aac	1584
Asp Thr Pro Ile Tyr Ile Gly Ile Met Pro Leu Val Ser Ala Arg Asn	
515 520 525	
gcc gac ttt ttg cat cat gaa gtg ccg ggc att acg ctc tct gac gag	1632
Ala Asp Phe Leu His His Gln Val Pro Gly Ile Thr Leu Ser Asp Glu	
530 535 540	
att cgc gcc cgc atg gcc gcc tgc agc ggc gac ccg gtg caa gca gcc	1680
Ile Arg Ala Arg Met Ala Ala Cys Ser Gly Asp Pro Val Gln Ala Ala	
545 550 555 560	

73

aag gaa ggc atc gct atc gcc aaa tcg ctc att gac gct gcg ttt gat 1728  
 Lys Glu Gly Ile Ala Ile Ala Lys Ser Leu Ile Asp Ala Ala Phe Asp  
 565 570 575

ttg ttt aac ggc att tat ttg atc acg ccg ttc ttg cgc tac gac atg 1776  
 Leu Phe Asn Gly Ile Tyr Leu Ile Thr Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Met  
 580 585 590

acg gtc gag ctt gtc cgc tac att cac gaa aaa gaa gcg gcc gcc aaa 1824  
 Thr Val Glu Leu Val Arg Tyr Ile His Glu Lys Glu Ala Ala Ala Lys  
 595 600 605

gaa agg aag gtt gtt cat ggc taa 1848  
 Glu Arg Lys Val Val His Gly  
 610 615

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 615

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Bacillus stearothermophilus

&lt;400&gt; 54

Val Gly Leu Leu Asp Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Ile Ala Asp Gly  
 1 5 10 15

Ala Met Gly Thr Leu Leu Tyr Ser His Gly Ile Asp Arg Cys Phe Glu  
 20 25 30

Glu Leu Asn Leu Ser Asn Pro Asp Glu Ile Val His Ile His Glu Ala  
 35 40 45

Tyr Ile Ala Ala Gly Ala Asp Val Ile Gln Thr Asn Thr Tyr Gly Ala  
 50 55 60

Asn Tyr Val Lys Leu Ala Arg Tyr Gly Leu Glu Asp Glu Val Pro Ala  
 65 70 75 80

Ile Asn Arg Ala Ala Val Arg Leu Ala Arg Gln Ala Ala Asn Gly Arg  
 85 90 95

Ala Tyr Val Leu Gly Thr Ile Gly Gly Leu Arg Thr Leu Asn Lys Ser  
 100 105 110

Val Val Thr Leu Glu Glu Val Lys Arg Thr Phe Arg Glu Gln Leu Phe  
 115 120 125

Val Leu Leu Ala Glu Gly Val Asp Gly Val Leu Leu Glu Thr Tyr Tyr  
 130 135 140

Asp Leu Glu Glu Leu Glu Thr Val Leu Ala Ile Ala Arg Lys Glu Thr  
 145 150 155 160

Asp Leu Pro Ile Ile Ala His Val Ser Leu His Glu Val Gly Val Leu  
 165 170 175

Gln Asp Gly Thr Pro Leu Ala Asp Ala Leu Ala Arg Leu Glu Ala Leu  
 180 185 190

Gly Ala Asp Val Val Gly Leu Asn Cys Arg Leu Gly Pro Tyr His Met

195					200					205					
Leu	Arg	Ser	Leu	Glu	Glu	Val	Pro	Leu	Pro	Asn	Arg	Ala	Phe	Leu	Ser
210						215				220					
Ala	Tyr	Pro	Asn	Ala	Ser	Leu	Pro	Asp	Tyr	Arg	Asp	Gly	Arg	Leu	Val
225					230					235					240
Tyr	Glu	Thr	Asn	Ala	Glu	Tyr	Phe	Glu	Glu	Thr	Ala	Lys	Ala	Phe	Arg
				245					250					255	
Asp	Gln	Gly	Val	Arg	Leu	Ile	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Thr	Thr	Pro	Lys
			260					265					270		
His	Ile	Glu	Ala	Met	Ala	Lys	Ala	Leu	Ser	Asp	Arg	Thr	Pro	Val	Thr
	275						280					285			
Glu	Lys	Thr	Val	Lys	Arg	Arg	Ala	Val	Ser	Val	Ser	Val	Gln	Ala	Glu
	290						295				300				
Arg	Pro	Ala	Pro	Ser	Pro	Leu	Pro	Glu	Leu	Ala	Arg	Thr	His	Arg	Ser
305					310					315					320
Val	Ile	Val	Glu	Leu	Asp	Pro	Pro	Lys	Lys	Leu	Gly	Ile	Asp	Lys	Phe
				325					330					335	
Leu	Ala	Gly	Ala	Lys	Ala	Leu	His	Asp	Ala	Gly	Ile	Asp	Ala	Leu	Thr
			340					345					350		
Leu	Ala	Asp	Asn	Ser	Leu	Ala	Thr	Pro	Arg	Ile	Ser	Asn	Ala	Ala	Val
		355					360					365			
Ala	Thr	Ile	Ile	Lys	Glu	Gln	Leu	Gly	Ile	Arg	Pro	Leu	Val	His	Ile
	370					375					380				
Thr	Cys	Arg	Asp	Arg	Asn	Leu	Ile	Gly	Leu	Gln	Ser	His	Leu	Met	Gly
385					390					395					400
Leu	His	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Asp	Val	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Asp	Pro
				405					410					415	
Ser	Lys	Ile	Gly	Asp	Phe	Pro	Gly	Ala	Thr	Ser	Val	Tyr	Asp	Leu	Ser
			420					425					430		
Ser	Phe	Asp	Leu	Ile	Arg	Leu	Ile	Arg	Gln	Phe	Asn	Glu	Gly	Leu	Ser
		435					440					445			
Tyr	Ser	Gly	Lys	Pro	Leu	Gly	Gln	Lys	Thr	Asn	Phe	Ser	Ile	Gly	Ala
		450				455					460				
Ala	Phe	Asn	Pro	Asn	Val	Arg	His	Leu	Asp	Lys	Ala	Val	Glu	Arg	Met
465					470					475					480
Glu	Lys	Lys	Ile	Gln	Cys	Gly	Ala	His	Tyr	Phe	Leu	Thr	Gln	Pro	Ile
				485					490					495	
Tyr	Ser	Glu	Glu	Lys	Ile	Val	Glu	Val	His	Glu	Ala	Thr	Lys	His	Leu
			500					505					510		
Asp	Thr	Pro	Ile	Tyr	Ile	Gly	Ile	Met	Pro	Leu	Val	Ser	Ala	Arg	Asn
		515					520					525			

Ala Asp Phe Leu His His Glu Val Pro Gly Ile Thr Leu Ser Asp Glu  
530 535 540

Ile Arg Ala Arg Met Ala Ala Cys Ser Gly Asp Pro Val Gln Ala Ala  
545 550 555 560

Lys Glu Gly Ile Ala Ile Ala Lys Ser Leu Ile Asp Ala Ala Phe Asp  
565 570 575

Leu Phe Asn Gly Ile Tyr Leu Ile Thr Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Met  
580 585 590

Thr Val Glu Leu Val Arg Tyr Ile His Glu Lys Glu Ala Ala Ala Lys  
595 600 605

Glu Arg Lys Val Val His Gly  
610 615

<210> 55

<211> 52

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 55

cccgggatcc gctagcggcg cgccggccgg cccggtgtga aataccgcac ag

52

<210> 56

<211> 53

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 56

tctagactcg agcggccgcg gccggccttt aaattgaaga cgaaagggcc tcg

53

<210> 57

<211> 47

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 57

gagatctaga cccggggatc cgctagcggg ctgctaaagg aagcgga

47

<210> 58

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 58

gagaggcgcg ccgctagcgt gggcgaagaa ctccagca

38

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 34

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 59

gagagggcgg ccgcgcaaag tcccgttctg tgaa

34

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 34

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 60

gagagggcgg ccgctcaagt cggtaagcc acgc

34

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 140

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 61

tcgaatttaa atctcgagag gcctgacgtc gggccccggtta ccacgcgtca tatgactagt 60  
tcggacctag ggatatcgtc gacatcgatg ctcttctgcg ttaattaaca attgggatcc 120  
tctagaccgc ggatttaaat 140

&lt;210&gt; 62

&lt;211&gt; 140

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 62

gatcatttaa atccccgggtc tagaggatcc caattgttaa ttaacgcaga agagcatcga 60  
tgctgacgat atccctaggc ccgaactagt catatgacgc gtggtaccgg gcccgacgtc 120  
aggcctctcg agatttaaat 140

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 63

gagagcggcc gccgacccctt ttttaacccat cac

33

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

&lt;400&gt; 64

aggagcggcc gccatcggca ttttcttttg cg

32

&lt;210&gt; 65

&lt;211&gt; 5091

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz:Plasmid

&lt;400&gt; 65

gccgcgactg	ccttcgcgaa	gccttgcccc	gcggaattt	cctccaccga	gttcgtgcac	60
acccctatgc	caagcttctt	tcaccctaaa	ttcgagagat	tggattctta	ccgtggaaat	120
tcttcgcaaa	aatcgtcccc	tgatcgccct	tgcgacgttg	gcgtcggtgc	cgctgggtgc	180
gcttggttg	accgacttga	tcagcgggcg	ctcgatttaa	atctcgagag	gcctgacgtc	240
gggcccggta	ccacgcgtca	tatgactagt	tcggacctag	ggatatcgtc	gacatcgatg	300
ctcttctgcg	ttaattaaca	attgggatcc	tctagacctg	ggatttaa	cgctagcggg	360
ctgctaaagg	aagcgggaaca	cgtagaaagc	cagtcgcgag	aaacgggtgct	gaccccggt	420
gaatgtcagc	tactgggcta	tctggacaag	ggaaaacgca	agcgcaaaga	gaaagcaggt	480
agcttgacgt	gggcttacat	ggcgatagct	agactgggcg	gttttatgga	cagcaagcga	540
accggaattg	ccagctgggg	cgccctctgg	taagggtggg	aagccctgca	aagtaaaactg	600
gatggctttc	ttgccgcaa	ggatctgatg	gcgcagggga	tcaagatctg	atcaagagac	660
aggatgagga	tcgtttcgca	tgattgaaca	agatggattg	cacgcaggtt	ctccggccgc	720
ttgggtggag	aggctattcg	gctatgactg	ggcacaacag	acaatcggtc	gctctgatgc	780
cgccgtgttc	cggctgtcag	cgcaggggcg	cccgggttctt	tttgtcaaga	ccgacctgtc	840
cgggtgccctg	aatgaactgc	aggacgaggc	agcgcggtta	tcgtgggtgg	ccacgcacggg	900
cgttccttgc	gcagctgtgc	tcgacgttgt	cactgaagcg	ggaagggact	ggctgctatt	960
gggcgaagtg	ccggggcagg	atctcctgtc	atctcacctt	gctcctgccg	agaaagtatc	1020
catcatggct	gatgcaatgc	ggcggttgca	tacgcttgat	ccggctacct	gcccattcga	1080
ccaccaagcg	aaacatcgca	tcgagcgagc	acgtactcgg	atggaagccg	gtcttgctga	1140
tcaggatgat	ctggacgaag	agcatcaggg	gctcgcgcca	gccgaactgt	tcgccaggct	1200
caaggcgcg	atgcccgcag	gcgaggatct	cgctcgtgacc	catggcgatg	cctgcttgcc	1260
gaatatcatg	gtggaaaatg	gcccgttttc	tggattcatc	gactgtggcc	ggctgggtgt	1320
ggcgggaccg	tatcaggaca	tagcggtggc	taccctgtgat	attgctgaag	agcttggcgg	1380
cgaatgggct	gaccgcttcc	tcgtgcttta	cggtatcgcc	gctcccga	cgacgcgc	1440
cgccttctat	cgccttcttg	acgagttctt	ctgagcgggg	ctctgggggt	cgaatgacc	1500
gaccaagcga	cgcccaacct	gccatcacga	gatttcgatt	ccaccgccgc	cttctatgaa	1560
aggttgggct	tcggaatcgt	tttccgggac	gccggctgga	tgatcctcca	gcgcggggat	1620
ctcatgctgg	agttcttcgc	ccacgctagc	ggcgcgccgg	ccggcccggg	gtgaaatacc	1680
gcacagatgc	gtaaggagaa	aataccgcat	caggcgctct	tccgcttctt	cgctcactga	1740
ctcgtgcgc	tcggtcgttc	ggctgcggcg	agcgggtatca	gctcactcaa	aggcggta	1800

acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca 1860  
aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt ttccatagge tccgcccccc 1920  
tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccgga caggactata 1980  
aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc 2040  
gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc 2100  
acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtagg cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga 2160  
accccccggt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc 2220  
ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag 2280  
gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct acactagaag 2340  
gacagtatctt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gaggtaggtag 2400  
ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcgggtgg ttttttggtt gcaagcagca 2460  
gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cgggggtctga 2520  
cgctcagtag aacgaaaaact caggttaagg gattttggctc atgagattat caaaaaggat 2580  
cttcaactag atcctttttaa aggcggcgcc cgcccgcgca aagtcgccgt tctgtaaaat 2640  
tttcgtgccg cgtgattttc cgcaaaaac ttaacgaac gttcgttata atggtgtcat 2700  
gaccttcacg acgaagtact aaaattggcc cgaatcatca gctatggatc tctctgatgt 2760  
cgcgctggag tccgacgcgc tcgatgctgc cgtcgattta aaaacgggtg tggattttt 2820  
ccgagctctc gatacgacgg acgcgccagc atcacgagac tgggcccagt cggcgagcga 2880  
cctagaaact ctctgtggcg atcttgagga gctggctgac gagctgcgtg ctccggccagc 2940  
gccaggagga cgcacagtag tggaggatgc aatcagttgc gcctactgcg gtggcctgat 3000  
tcctccccgg cctgacccgc gaggacggcg cgcaaaatat tgctcagatg cgtgtcgtgc 3060  
cgacgccagc cgcgagcgcg ccaacaaacg ccacgccgag gagctggagg cggctagggtc 3120  
gcaaatggcg ctggaagtgc gtccccgag cgaaattttg gccatggtcg tcacagagct 3180  
ggaagcggca gcgagaatta tcgcgatcgt ggcgggtgcc gcaggcatga caaacatcgt 3240  
aaatgccgcg tttcgtgtgc cgtggccgcc caggacgtgt cagcgccgcc accacctgca 3300  
ccgaatcggc agcagcgtcg cgctcgaaa aagcgcacag gcggcaagaa gcgataagct 3360  
gcacgaatac ctgaaaaatg ttgaacgccc cgtgagcggc aactcacagg gcgtcggcta 3420  
acccccagtc caaacctggg agaaagcgct caaaaatgac tctagcggat tcacgagaca 3480  
ttgacacacc ggcttgaaa ttttccgctg atctgttcga caccatccc gagctcgcgc 3540  
tgcatcacg tggctggacg agcgaagacc gccgcgaatt cctcgtcac ctgggcagag 3600  
aaaatttcca gggcagcaag acccgcgact ttggatcaaa gaccgggaca 3660  
cggagaaaca cagccgaagt tataccgagt tggttcaaaa tcgcttgccc ggtgccagta 3720  
tggtgctctg acgcacgcgc agcacgcagc cgtgcttgtc ctggacattg atgtgccgag 3780  
ccaccaggcc ggccgggaaa tcgagcacgt aaaccccgag gtctacgcga ttttggagcg 3840  
ctgggcacgc ctggaaaaag cgccagcttg gatcggcggt aatccactga gcgggaaatg 3900  
ccagctcatc tggctcattg atccggtgta tgccgcagca ggcatgagca gccgaatat 3960  
gcgcctgctg gctgcaacga ccgaggaaat gaccgcggt ttcggcgctg accaggcttt 4020  
ttcacatagg ctgagccgtg gccactgcac tctccgacga tcccagccgt accgctggca 4080  
tgccacagc aatcgctgg atcgcttagc tgatcttatg gaggttgctc gcatgatctc 4140  
aggcacagaa aaacctaaaa aacgctatga gcaggagtt tctagcggac gggcacgtat 4200  
cgaagcggca agaaaagcca ctgcggaagc aaaagcactt gccacgcttg aagcaagcct 4260  
gccgagcgcc gctgaagcgt ctggagagct gatcgacggc gtccgtgtcc tctggactgc 4320  
tccaggcggt gccgcccgtg atgagacggc ttttcgccac gctttgactg tgggatacca 4380  
gttaaaagcg gctgggtgagc gcctaaaaga caccaagggt catcgagcct acgagcgtgc 4440  
ctacaccgtc gctcaggcgg tcggaggagg ccgtgagcct gatctgccgc cggactgtga 4500  
ccgccagacg gattggccgc gacgtgtgcg cggctacgtc gctaaaggcc agccagtcgt 4560  
ccctgctcgt cagacagaga cgcagagcca gccgaggcga aaagctcttg cactatggg 4620  
aagacgtggc ggtaaaaagg ccgcagaacg ctggaaaagc ccaaacagt agtacgccc 4680  
agcacagcga gaaaaactag ctaagtccag tcaacgacaa gctaggaaaag cttaaaggaaa 4740  
tcgcttgacc attgcagggt ggtttatgac tgttgaggga gagactggct cgtggccgac 4800  
aatcaatgaa gctatgtctg aatttagcgt gtcacgtcag accgtgaata gagcacttaa 4860  
ggctcgcggg cattgaactt ccacgaggac gccgaaagct tcccagtaaa tgtgccatct 4920  
cgtaggcaga aaacggttcc cccgtagggt ctctctcttg gcctcctttc taggtcgggc 4980  
tgattgctct tgaagctctc tagggggggt cacaccatag gcagataacg tccccaccg 5040  
gctcgcctcg taagcgcaca aggactgctc ccaaagatct tcaaagccac t 5091

&lt;210&gt; 66

&lt;211&gt; 4323

&lt;212&gt; DNA



## &lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

&lt;400&gt; 66

tctctcagcg	tatgggtgtc	gcctgagctg	tagttgcctt	catcgatgaa	ctgctgtaca	60
ttttgatacg	tttttccgct	accgtcaaag	attgatttat	aatcctctac	accgttgatg	120
ttcaaagagc	tgtctgatgc	tgatacgtta	acttggtgcg	ttgtcagtg	ttgtttgccg	180
taatgtttac	cggagaaatc	agtgtagaat	aaacggattt	ttccgctcaga	tgtaaattgt	240
gctgaacctg	accattcttg	tgtttgggtc	tttaggatag	aatcatttgc	atcgaatttg	300
tcgctgtctt	taaagacgcg	gccagcggtt	ttccagctgt	caatagaagt	ttcgccgact	360
ttttgataga	acatgtaaat	cgatgtgtca	tccgcatttt	taggatctcc	ggctaattgca	420
aagacgatgt	ggtagccgtg	atagtttgcg	acagtgccgt	cagcgttttg	taatggccag	480
ctgtcccaaa	cgtccaggcc	ttttgcagaa	gagatatatt	taattgtgga	cgaatcaa	540
tcagaaactt	gatattttcc	atgtttttgc	tgttcagggg	tttgcagcat	atcatggcgt	600
gtaatatggg	aaatgccgta	tgtttccctt	tatggctttt	ggttcggttc	tttcgcaaac	660
gcttgagttg	cgcctcctgc	cagcagtgcg	gtagtaaagg	ttaatactgt	tgcttgtttt	720
gcaaaacttt	tgatgttcat	cgttcatgtc	tcctttttta	tgtactgtgt	tagcggctctg	780
cttcttccag	ccctcctgtt	tgaagatggc	aagttagtta	cgcacaataa	aaaaagacct	840
aaaatatgta	aggggtgacg	ccaaagtata	cactttgccc	tttacacatt	ttaggtcttg	900
cctgctttat	cagtaacaaa	cccgcgcgat	ttacttttcg	acctcattct	attagactct	960
cgtttggtg	gcaactgggtc	tatttttctc	ttttgtttga	tagaaaatca	taaaaggatt	1020
tgacagactac	gggcctaaag	aactaaaaaa	tctatctggt	tcttttcatt	ctctgtattt	1080
tttatagtgt	ctgttgcatg	ggcataaagt	tgctttttta	atcacaaatc	agaaaaatc	1140
ataatatctc	atttcactaa	ataatagtga	acggcaggta	tatgtgatgg	gttaaaaaag	1200
atcggcgggc	gctcgattta	aatctcgaga	ggcctgacgt	cgggcccggg	accacgcgtc	1260
atatgactag	ttcggacctt	gggatatcgt	cgacatcgat	gctcttctgc	gttaattaac	1320
aattgggatac	ctctagaccc	gggattttaa	tcgctagcgg	gctgctaaag	gaagcgggac	1380
acgtagaaaag	ccagtcgcga	gaaacgggtc	tgaccccggg	tgaatgtcag	ctactgggct	1440
atctggacaa	gggaaaacgc	aagcgcgaag	agaaaagcag	tagcttgcat	tgggcttaca	1500
tggcgatagc	tagactgggc	ggttttatgg	acagcaagcg	aaccggaatt	gccagctggg	1560
gcgcctctctg	gtaagggttg	gaagccctgc	aaagtaaact	ggatggcttt	cttgccgcca	1620
aggatctgat	ggcgagggg	atcaagatct	gatcaagaga	caggatgagg	atcgtttcgc	1680
atgattgaac	aagatggatt	gcacgcaggt	tctccggccg	cttgggtgga	gaggctattc	1740
ggctatgact	gggcacaaca	gacaatcggc	tgctctgatg	ccgcccgtgt	ccggctgtca	1800
gcgcaggggc	gcccggttct	ttttgtcaag	accgacctgt	ccggtgccct	gaatgaactg	1860
caggacgagg	cagcgcggct	atcggtggctg	gccacgacgg	gcgttccttg	cgcagctgtg	1920
ctcgacgttg	tactgaagc	gggaagggac	tggttgctat	tgggcgaagt	gccggggcag	1980
gatctcctgt	catctcacct	tgctcctgcc	gagaaagtat	ccatcatggc	tgatgcaatg	2040
cggcggctgc	atacgcttga	tccggctacc	tgcccatcgc	accaccaagc	gaaacatcgc	2100
atcgagcgag	cagctactcg	gatggaagcc	ggctctgtcg	atcaggatga	tctggacgaa	2160
gagcatcagg	ggctcgcgcc	agccgaactg	ttcgccaggc	tcaaggcgcg	catgcccagc	2220
ggcgaggatc	tcgtcgtgac	ccatggcgat	gcctgcttgc	cgaatatcat	ggtggaaaat	2280
ggcgcgtttt	ctggattcat	cgactgtggc	cggctgggtg	tggcggaccg	ctatcaggac	2340
atagcggttg	ctaccctgta	tattgctgaa	gagcttggcg	gcgaatgggc	tgaccgcttc	2400
ctcggtgctt	acggtatcgc	cgctcccgat	tcgcagcgca	tcgccttcta	tcgccttctt	2460
gacgagttct	tctgagcggg	actctggggg	tcgaaatgac	cgaccaagcg	acgcccacc	2520
tgccatcacg	agatttcgat	tccaccgcgc	ccttctatga	aagggtgggc	ttcggaatcg	2580
ttttccggga	cgcggctg	atgatectcc	agcgcgggga	tctcatgctg	gagttcttcg	2640
cccacgctag	cggcgcgccg	gccggcccg	tgtgaaatac	cgcacagatg	cgtaaggaga	2700
aaataccgca	tcaggcgctc	ttccgcttcc	tcgctcactg	actcgctgcg	ctcggtcggt	2760
cggctgcggc	gagcgggtatc	agctcactca	aaggcggtaa	tacggttatc	cacagaatca	2820
ggggataacg	caggaaagaa	catgtgagca	aaaggccagc	aaaaggccag	gaaccgtaaa	2880
aaggccgcgt	tgctggcggt	tttccatagg	ctccgcccc	ctgacgagca	tcacaaaaat	2940
cgacgctcaa	gtcagagggtg	gcgaaaccgc	acaggactat	aaagatacca	ggcggttccc	3000
cctggaagct	ccctcgtgcg	ctctcctggt	ccgacctg	cgcttaccgg	atacctgtcc	3060
gcctttctcc	cttcgggaag	cgtggcgctt	tctcatagct	cacgctgtag	gtatctcagt	3120
tcggtgtagg	tcgttcgctc	caagctgggc	tgtgtgcacg	aaccccccg	tcagcccagc	3180
cgctgcgcct	tatccggtaa	ctatcgtctt	gagccaacc	cggtaaagca	cgacttatcg	3240
ccactggcag	cagccactgg	taacaggatt	agcagagcga	ggtatgtagg	cgggtgtaca	3300

```

gagttcttga agtggtggcc taactacggc tacactagaa ggacagtatt tggatatctgc 3360
gctctgctga agccagttac cttecgaaaa agagttggta gctcttgatc cggcaaacia 3420
accaccgctg gtagcggtgg tttttttggt tgcaagcagc agattacgcg cagaaaaaaa 3480
ggatctcaag aagatccttt gatcttttct acggggtctg acgctcagtg gaacgaaaac 3540
tcacgttaag ggatttttgg catgagatta tcaaaaagga tcttcaccta gatcctttta 3600
aaggccggcc gcggccgcca tcggcatttt cttttgcgtt tttatttggt aactgttaat 3660
tgtccttggt caaggatgct gtctttgaca acagatgttt tcttgccctt gatgttcagc 3720
aggaagctcg gcgcaaacgt tgattgtttg tctgcgtaga atcctctggt tgatcatatag 3780
cttgtaatca cgacattggt tcctttcgtc tgaggtacag cgaagtgtga gtaagtaaag 3840
gttacatcgt taggatcaag atccattttt aacacaaggc cagttttggt cagcggcttg 3900
tatggggccag ttaaagaatt agaaacataa ccaagcatgt aaatatcgtt agacgtaatg 3960
ccgtcaatcg tcatttttga tccgcgggag tcagtgaaca ggtaccattt gccgttcatt 4020
ttaaagacgt tcgcgcgttc aatttcattc gttactgtgt tagatgcaat cagcgggttc 4080
atcacttttt tcagtgtgta atcatcgttt agtcaatca taccgagagc gccgtttgct 4140
aactcagccg tgcgtttttt atcgttttgc agaagttttt gactttcttg acggaagaat 4200
gatgtgcttt tgccatagta tgctttgtta aataaagatt cttcgccttg gtagccatct 4260
tcagttccag tgtttgcttc aaatactaag tatttgtggc ctttatcttc tacgtagtga 4320
gga 4323

```

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 35

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR Primer

&lt;400&gt; 67

gagagagaga gcggtcccag tggctgagac gcatc

35

&lt;210&gt; 68

&lt;211&gt; 34

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR Primer

&lt;400&gt; 68

ctctctctgt cgacgaattc aatcttacgg cctg

34

&lt;210&gt; 69

&lt;211&gt; 5860

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 69  
cccgggtacca cgcgtcccag tggctgagac gcatccgcta aagccccagg aaccctgtgc 60  
agaaagaaaa cactcctctg gctaggtaga cacagtttat aaaggtagag ttgagcgggt 120  
aactgtcagc acgtagatcg aaaggtgcac aaaggtggcc ctggctgtac agaaatatgg 180  
cggttcctcg cttgagagtg cggaacgcat tagaaacgtc gctgaacgga tcgttgccac 240  
caagaaggct ggaaatgatg tcgtgggtgt ctgctccgca atgggagaca ccacggatga 300  
acttctagaa cttgcagcgg cagtgaatcc cgttccgcca gctcgtgaaa tggatatgct 360  
cctgactgct ggtgagcgtt tttctaacgc tctcgtcgcc atggctattg agtcccttgg 420  
cgcagaagcc caatctttca cgggctctca ggctgggtgtg ctcaccaccg agcgccacgg 480  
aaacgcacgc attgttgatg tcactccagg tcgtgtgctg gaagcactcg atgagggcaa 540  
gatctgcatt gttgctgggt tccaggggtg taataaagaa acccgcgatg tcaccacgtt 600  
gggtcgtggt gggtctgaca ccactgcagt tgcgttgga gctgctttga acgctgatgt 660  
gtgtgagatt tactcggacg ttgacgggtg gtataccgct gacccgcgca tcgttcctaa 720  
tgcacagaag ctggaaaagc tcagcttcga agaaatgctg gaacttgctg ctggttggtc 780  
caagattttg gtgctgcgca gtgttgaaata cgctcgtgca ttcaatgtgc cacttcgcgt 840  
acgctcgtct tatagtaatg atcccggcac ttgtattgcc ggctctatgg aggatattcc 900  
tgtggaagaa gcagtcctta ccggtgtcgc aaccgacaag tccgaagcca aagtaaccgt 960  
tctgggtatt tccgataagc caggcgaggg tgcgaagggt ttccgtgctg tggctgatgc 1020  
agaaatcaac attgacatgg ttctgcagaa cgtctcttct gtagaagacg gcaccaccga 1080  
catcaccttc acctgccctc gttccgacgg ccgcccgcgc atggagatct tgaagaagct 1140  
tcaggttcag ggcaactgga ccaatgtgct ttacgacgac caggctcggca aagtctccct 1200  
cgtgggtgct ggcatgaagt ctcaccacag tggtaccgca gagttcatgg aagctctgcg 1260  
cgatgtcaac gtgaacatcg aattgatttc cacctctgag attcgtattt ccgtgctgat 1320  
ccgtgaagat gatctggatg ctgctgcacg tgcattgcat gagcagttcc agctgggcgg 1380  
cgaagacgaa gccgtcggtt atgcaggcac cggacgctaa agttttaaag gagtagtttt 1440  
acaatgacca ccatcgcagt tgttggtgca accggccagg tcggccaggt tatgcgcacc 1500  
cttttggaag agcgcaattt cccagctgac actgttcggt tctttgcttc cccacgttcc 1560

gcaggccgta agattgaatt cgtcgacatc gatgctcttc tgcgttaatt aacaattggg 1620  
atcctctaga cccgggattt aaatcgctag cgggctgcta aaggaagcgg aacacgtaga 1680  
aagccagtcc gcagaaacgg tgtgacccc ggatgaatgt cagctactgg gctatctgga 1740  
caagggaaaa cgcaagcgca aagagaaagc aggtagcttg cagtgggctt acatggcgat 1800  
agctagactg ggcggtttta tggacagcaa gcgaaccgga attgccagct ggggcgcctt 1860  
ctggtaaggt tgggaagccc tgcaaagtaa actggatggc tttcttgccg ccaaggatct 1920  
gatggcgcag gggatcaaga tctgatcaag agacaggatg aggatcgttt cgcattgattg 1980  
aacaagatgg attgcacgca gggtctccgg ccgcttgggt ggagaggcta ttcggctatg 2040  
actgggcaca acagacaatc ggctgctctg atgccgccgt gttccggctg tcagcgcagg 2100  
ggcgcccggg tctttttgtc aagaccgacc tgtccgggtgc cctgaatgaa ctgcaggacg 2160  
aggcagcgcg gctatcgtgg ctggccacga cgggcgttcc ttgcgcagct gtgctcgacg 2220  
ttgtcactga agcgggaagg gactggctgc tattgggcga agtgccgggg caggatctcc 2280  
tgtcatctca ccttgctcct gccgagaaag tatccatcat ggctgatgca atgcggcggc 2340  
tgcatacgct tgatccggct acctgccat tcgaccacca agcgaacat cgcacgcagc 2400  
gagcacgtac tcggatggaa gccggtcttg tcgatcagga tgatctggac gaagagcatc 2460  
aggggctcgc gccagccgaa ctgttcgcca ggctcaaggc gcgcattgcc gacggcgagg 2520  
atctcgtcgt gacccatggc gatgcctgct tgccgaatat catggtggaa aatggccgct 2580  
tttctggatt catcgactgt ggccggctgg gtgtggcgga ccgctatcag gacatagcgt 2640  
tggctacccg tgatattgct gaagagcttg gcggcgaatg ggctgaccgc ttcctcgtgc 2700  
tttacggtat cgccgctccc gattcgcagc gcatcgctt ctatcgctt cttgacgagt 2760  
tcttctgagc gggactctgg gggtcgaaat gaccgaccaa gcgacgcca acctgccatc 2820  
acgagatttc gattccaccc ccgccttcta tgaaagggtg ggcttcggaa tcgttttccg 2880  
ggacgccggc tggatgatcc tccagcgcg ggatctcatg ctggagttct tcgcccacgc 2940  
tagcggcgcg ccggccggcc cgggtgtgaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc 3000  
gcatcaggcg ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc 3060  
ggcgagcgg atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata 3120  
acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg 3180  
cgttgctggc gtttttccat aggtccgccc ccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct 3240  
caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcggtt cccctggaa 3300  
gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg tccgccttcc 3360

tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtgt 3420  
aggteggttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg 3480  
ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggttaag acacgactta tcgccactgg 3540  
cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggatgt aggcgggtgct acagagttct 3600  
tgaagtgggtg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtatc tgcgctctgc 3660  
tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg 3720  
ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc 3780  
aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt 3840  
aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaaggccg 3900  
gccgcggccg ccatcggcct tttcttttgc gtttttattt gttaactgtt aattgtcctt 3960  
gttcaaggat gctgtctttg acaacagatg ttttcttgcc tttgatgttc agcaggaagc 4020  
tcggcgcaaa cgttgattgt ttgtctgcgt agaatcctct gtttgtcata tagcttgtaa 4080  
tcacgacatt gtttcctttc gcttgaggta cagcgaagtg tgagtaagta aaggttacat 4140  
cgttaggatc aagatccatt ttttaacaaa ggccagtttt gttcagcggc ttgtatgggc 4200  
cagttaaaga attagaaaca taaccaagca tgtaaatac gttagacgta atgccgtcaa 4260  
tcgtcatttt tgatccgcgg gagtcagtga acaggtacca tttgccgttc attttaaaga 4320  
cgttcgcgcg ttcaatttca tctgttactg tgtagatgc aatcagcggg ttcacactt 4380  
ttttcagtg gtaatcatcg tttagctcaa tcataccgag agcgccggtt gctaactcag 4440  
ccgtgcgttt tttatcgctt tgcagaagtt tttgactttc ttgacggaag aatgatgtgc 4500  
ttttgccata gtatgctttg ttaaataaag attcttcgcc ttggtagcca tcttcagttc 4560  
cagtgtttgc ttcaaatact aagtatttgt ggcctttatc ttctacgtag tgaggatctc 4620  
tcagcgtatg gttgtgcgct gagctgtagt tgccttcac gatgaactgc tgtacatttt 4680  
gatacgtttt tccgtcaccg tcaaagattg atttataatc ctctacaccg ttgatgttca 4740  
aagagctgtc tgatgctgat acgttaactt gtgcagttgt cagtgtttgt ttgccgtaat 4800  
gtttaccgga gaaatcagt tagaataaac ggatttttcc gtcagatgta aatgtggctg 4860  
aacctgacca ttcttggtgt tgggtctttta ggatagaatc atttgcatcg aatttgctgc 4920  
tgtctttaaa gacgcggcca gcgtttttcc agctgtcaat agaagtttcg ccgacttttt 4980  
gatagaacat gtaaactgat gtgtcatccg catttttagg atctccggct aatgcaaaga 5040  
cgatgtggta gccgtgatag tttgcgacag tgccgtcagc gttttgtaat ggccagctgt 5100  
cccaaacgtc caggcctttt gcagaagaga tatttttaaat tgtggacgaa tcaaattcag 5160  
aaacttgata tttttcattt ttttgctgtt cagggtttg cagcatatca tggcgtgtaa 5220

tatgggaaat gccgtatggt tccttatatg gcttttggtt cgtttcttc gcaaacgctt 5280  
gagttgcgcc tcctgccagc agtgcggtag taaagggttaa tactgttgct tgttttgcaa 5340  
actttttgat gttcâtcggt catgtctcct tttttatgta ctgtgttagc ggtctgcttc 5400  
ttccagccct cctgtttgaa gatggcaagt tagttacgca caataaaaaa agacctaaaa 5460  
tatgtaaggg gtgacgcaa agtatacact ttgcccttta cacattttag gtcttgctg 5520  
ctttatcagt aacaaacccg cgcgatttac ttttcgacct cattctatta gactctcggt 5580  
tggattgcaa ctggtctatt ttctctttt gtttgataga aaatcataaa aggatttgca 5640  
gactacgggc ctaaagaact aaaaaatcta tctgtttctt ttcattctct gtatttttta 5700  
tagtttctgt tgcacgggca taaagttgcc tttttaatca caattcagaa aatatcataa 5760  
tatctcattt cactaaataa tagtgaacgg caggtatatg tgatgggtta aaaaggatcg 5820  
gcggccgctc gatttaaate tcgagaggcc tgacgtcggg 5860

<210> 70

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR Primer

<400> 70

cggcaccacc gacatcatct tcacctgcc tcgttccg

38

<210> 71

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR Primer

<400> 71

cggaacgagg gcaggtgaag atgatgtcgg tggtgccg

38

<210> 72

&lt;211&gt; 1266

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; LysC Mutante

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1) .. (1266)

&lt;223&gt;

<400> 72  
 gtg gcc ctg gtc gta cag aaa tat ggc ggt tcc tcg ctt gag agt gcg 48  
 Val Ala Leu Val Val Gln Lys Tyr Gly Gly Ser Ser Leu Glu Ser Ala  
 1 5 10 15

gaa cgc att aga aac gtc gct gaa cgg atc gtt gcc acc aag aag gct 96  
 Glu Arg Ile Arg Asn Val Ala Glu Arg Ile Val Ala Thr Lys Lys Ala  
 20 25 30

gga aat gat gtc gtg gtt gtc tgc tcc gca atg gga gac acc acg gat 144  
 Gly Asn Asp Val Val Val Val Cys Ser Ala Met Gly Asp Thr Thr Asp  
 35 40 45

gaa ctt cta gaa ctt gca gcg gca gtg aat ccc gtt ccg cca gct cgt 192  
 Glu Leu Leu Glu Leu Ala Ala Ala Val Asn Pro Val Pro Pro Ala Arg  
 50 55 60

gaa atg gat atg ctc ctg act gct ggt gag cgt att tct aac gct ctc 240  
 Glu Met Asp Met Leu Leu Thr Ala Gly Glu Arg Ile Ser Asn Ala Leu  
 65 70 75 80

gtc gcc atg gct att gag tcc ctt ggc gca gaa gcc caa tct ttc acg 288  
 Val Ala Met Ala Ile Glu Ser Leu Gly Ala Glu Ala Gln Ser Phe Thr  
 85 90 95

ggc tct cag gct ggt gtg ctc acc acc gag cgc cac gga aac gca cgc 336  
 Gly Ser Gln Ala Gly Val Leu Thr Thr Glu Arg His Gly Asn Ala Arg  
 100 105 110

att gtt gat gtc act cca ggt cgt gtg cgt gaa gca ctc gat gag ggc 384  
 Ile Val Asp Val Thr Pro Gly Arg Val Arg Glu Ala Leu Asp Glu Gly  
 115 120 125

aag atc tgc att gtt gct ggt ttc cag ggt gtt aat aaa gaa acc cgc 432  
 Lys Ile Cys Ile Val Ala Gly Phe Gln Gly Val Asn Lys Glu Thr Arg  
 130 135 140

gat gtc acc acg ttg ggt cgt ggt ggt tct gac acc act gca gtt gcg 480  
 Asp Val Thr Thr Leu Gly Arg Gly Gly Ser Asp Thr Thr Ala Val Ala  
 145 150 155 160

ttg gca gct gct ttg aac gct gat gtg tgt gag att tac tcg gac gtt 528  
 Leu Ala Ala Ala Leu Asn Ala Asp Val Cys Glu Ile Tyr Ser Asp Val





gca ggc acc gga cgc taa  
Ala Gly Thr Gly Arg  
420

<210> 73

<211> 421

<212> PRT

<213> LysC Mutante

<400> 73

Val Ala Leu Val Val Gln Lys Tyr Gly Gly Ser Ser Leu Glu Ser Ala  
1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Asn Val Ala Glu Arg Ile Val Ala Thr Lys Lys Ala  
20 25 30

Gly Asn Asp Val Val Val Val Cys Ser Ala Met Gly Asp Thr Thr Asp  
35 40 45

Glu Leu Leu Glu Leu Ala Ala Ala Val Asn Pro Val Pro Pro Ala Arg  
50 55 60

Glu Met Asp Met Leu Leu Thr Ala Gly Glu Arg Ile Ser Asn Ala Leu  
65 70 75 80

Val Ala Met Ala Ile Glu Ser Leu Gly Ala Glu Ala Gln Ser Phe Thr  
85 90 95

Gly Ser Gln Ala Gly Val Leu Thr Thr Glu Arg His Gly Asn Ala Arg  
100 105 110

Ile Val Asp Val Thr Pro Gly Arg Val Arg Glu Ala Leu Asp Glu Gly  
115 120 125

Lys Ile Cys Ile Val Ala Gly Phe Gln Gly Val Asn Lys Glu Thr Arg  
130 135 140

Asp Val Thr Thr Leu Gly Arg Gly Gly Ser Asp Thr Thr Ala Val Ala  
145 150 155 160

Leu Ala Ala Ala Leu Asn Ala Asp Val Cys Glu Ile Tyr Ser Asp Val  
165 170 175

Asp Gly Val Tyr Thr Ala Asp Pro Arg Ile Val Pro Asn Ala Gln Lys  
 180 185 190

Leu Glu Lys Leu Ser Phe Glu Glu Met Leu Glu Leu Ala Ala Val Gly  
 195 200 205

Ser Lys Ile Leu Val Leu Arg Ser Val Glu Tyr Ala Arg Ala Phe Asn  
 210 215 220

Val Pro Leu Arg Val Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Asp Pro Gly Thr Leu  
 225 230 235 240

Ile Ala Gly Ser Met Glu Asp Ile Pro Val Glu Glu Ala Val Leu Thr  
 245 250 255

Gly Val Ala Thr Asp Lys Ser Glu Ala Lys Val Thr Val Leu Gly Ile  
 260 265 270

Ser Asp Lys Pro Gly Glu Ala Ala Lys Val Phe Arg Ala Leu Ala Asp  
 275 280 285

Ala Glu Ile Asn Ile Asp Met Val Leu Gln Asn Val Ser Ser Val Glu  
 290 295 300

Asp Gly Thr Thr Asp Ile Ile Phe Thr Cys Pro Arg Ser Asp Gly Arg  
 305 310 315 320

Arg Ala Met Glu Ile Leu Lys Lys Leu Gln Val Gln Gly Asn Trp Thr  
 325 330 335

Asn Val Leu Tyr Asp Asp Gln Val Gly Lys Val Ser Leu Val Gly Ala  
 340 345 350

Gly Met Lys Ser His Pro Gly Val Thr Ala Glu Phe Met Glu Ala Leu  
 355 360 365

Arg Asp Val Asn Val Asn Ile Glu Leu Ile Ser Thr Ser Glu Ile Arg  
 370 375 380

Ile Ser Val Leu Ile Arg Glu Asp Asp Leu Asp Ala Ala Ala Arg Ala  
 385 390 395 400

Leu His Glu Gln Phe Gln Leu Gly Gly Glu Asp Glu Ala Val Val Tyr  
 405 410 415

Ala Gly Thr Gly Arg  
420

<210> 74

<211> 5860

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 74

cccggtacca cgcgtcccag tggctgagac gcatccgcta aagccccagg aaccctgtgc	60
agaaagaaaa cactcctctg gctaggtaga cacagtttat aaaggtagag ttgagcgggt	120
aactgtcagc acgtagatcg aaaggcgcac aaaggcggcc ctggctcgta agaaatatgg	180
cggttcctcg cttgagagtg cggaacgcat tagaaacgtc gctgaacgga tcgttgccac	240
caagaaggct ggaaatgatg tcgtggttgt ctgctccgca atgggagaca ccacggatga	300
acttctagaa cttgcagcgg cagtgaatcc cgttccgcca gctcgtgaaa tggatatgct	360
cctgactgct ggtgagcgta tttctaacgc tctcgtcgcc atggctattg agtcccttgg	420
cgcagaagcc caatctttca cgggctctca ggctgggtgtg ctcaccaccg agcgccacgg	480
aaacgcacgc attgttgatg tcaactccagg tcgtgtgcgt gaagcactcg atgagggcaa	540
gatctgcatt gttgctgggt tccaggggtg taataaagaa acccgcgatg tcaccacgtt	600
gggtcgtggg ggttctgaca ccactgcagt tgcgttggca gctgctttga acgctgatgt	660
gtgtgagatt tactcggacg ttgacgggtg gtataccgct gaccgcgcga tcgttcctaa	720
tgcacagaag ctggaaaagc tcagcttcga agaaatgctg gaacttgctg ctgttggtc	780
caagattttg gtgctgcgca gtgttgaata cgctcgtgca ttcaatgtgc cacttcgcgt	840
acgctcgtct tatagtaatg atcccgccac tttgattgcc ggctctatgg aggatattcc	900
tgtggaagaa gcagtcctta ccggtgtcgc aaccgacaag tccgaagcca aagtaaccgt	960
tctgggtatt tccgataagc caggcgaggc tgcaagggtt ttccgtgcgt tggctgatgc	1020
agaaatcaac attgacatgg ttctgcagaa cgtctcttct gtagaagacg gcaccaccga	1080
catcatcttc acctgccctc gttccgacgg ccgcccgcgc atggagatct tgaagaagct	1140
tcaggttcag ggcaactgga ccaatgtgct ttacgacgac caggcggca aagtctccct	1200
cgtgggtgct ggcataaggt ctcaccacgg tgttaccgca gagttcatgg aagctctgcg	1260
cgatgtcaac gtgaacatcg aattgatttc cacctctgag attcgtattt ccgtgctgat	1320

ccgtgaagat gatctggatg ctgctgcacg tgcattgcat gagcagttcc agctgggcgg 1380  
cgaagacgaa gccgtcgttt atgcaggcac cggacgctaa agtttttaaag gagtagtttt 1440  
acaatgacca ccatcgagtg tggttggtgca accggccagg tcggccagggt tatgcgaccc 1500  
cttttggaag agcgcaattt cccagctgac actgttcggt tctttgcttc cccacgttcc 1560  
gcaggccgta agattgaatt cgtcgacatc gatgctcttc tgcgttaatt aacaattggg 1620  
atcctctaga cccgggattt aaatcgctag cgggctgcta aaggaagcgg aacacgtaga 1680  
aagccagtcc gcagaaacgg tgctgacccc ggatgaatgt cagctactgg gctatctgga 1740  
caagggaaaa cgcaagcgca aagagaaagc aggtagcttg cagtgggctt acatggcgat 1800  
agctagactg ggcggtttta tggacagcaa gcgaaccgga attgccagct ggggcgcctt 1860  
ctggtaagggt tgggaagccc tgcaaagtaa actggatggc tttcttgccg ccaaggatct 1920  
gatggcgcag gggatcaaga tctgatcaag agacaggatg aggatcgttt cgcattgattg 1980  
aacaagatgg attgcacgca ggttctccgg ccgcttgggt ggagaggcta ttcggctatg 2040  
actgggcaca acagacaatc ggctgctctg atgccgccgt gttccggctg tcagcgcagg 2100  
ggcgcccgggt tctttttgtc aagaccgacc tgtccgggtg cctgaatgaa ctgcaggacg 2160  
aggcagcgcg gctatcggtg ctggccacga cgggcggttc ttgcgcagct gtgctcgacg 2220  
ttgtcactga agcgggaagg gactggctgc tattgggcga agtgccgggg caggatctcc 2280  
tgtcatctca ccttgctcct gccgagaaag tatccatcat ggctgatgca atgcggcggc 2340  
tgcatacgct tgatccggct acctgcccac tcgaccacca agcgaaacat cgcattcgagc 2400  
gagcacgtac tcggatggaa gccggtcttg tcgatcagga tgatctggac gaagagcatc 2460  
aggggctcgc gccagccgaa ctgttcgcca ggctcaaggc gcgcatgccc gacggcgagg 2520  
atctcgtcgt gacccatggc gatgcctgct tgccgaatat catggtggaa aatggccgct 2580  
tttctggatt catcgactgt ggccggctgg gtgtggcgga ccgctatcag gacatagcgt 2640  
tggctacccg tgatattgct gaagagcttg gcggcgaaat ggctgaccgc ttcctcgtgc 2700  
tttacggtat cgccgctccc gattcgcagc gcatcgctt ctatcgctt cttgacgagt 2760  
tcttctgagc gggactctgg ggttcgaaat gaccgaccaa gcgacgcca acctgccatc 2820  
acgagatttc gattccaccg ccgccttcta tgaaagggtg ggcttcggaa tcgttttccg 2880  
ggacgccggc tggatgatcc tccagcgcg ggatctcatg ctggagttct tcgcccacgc 2940  
tagcggcgcg ccggccggcc cgggtgtgaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc 3000  
gcatcaggcg ctcttccgct tctcgcctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc 3060  
ggcgagcgggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata 3120

acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg 3180  
cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct 3240  
caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt ccccttgaa 3300  
gctccctcgt gcgctctcct gtcccgaccc tgcgcgttac cggatacctg tccgccttcc 3360  
tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt 3420  
aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg 3480  
ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggttaag acacgactta tcgccactgg 3540  
cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggatgt aggcgggtgt acagagttct 3600  
tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtatc tgcgctctgc 3660  
tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg 3720  
ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc 3780  
aagaagatcc ttgatcttt tctacggggc ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt 3840  
aagggtattt ggcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaaggccg 3900  
gccgcggccg ccatcgcat tttcttttgc gtttttattt gttaactgtt aattgtcctt 3960  
gttcaaggat gctgtctttg acaacagatg ttttcttgcc ttgatgttc agcaggaagc 4020  
tcggcgcaaa cgttgattgt ttgtctgcgt agaatcctct gtttgtcata tagcttgtaa 4080  
tcacgacatt gtttccttcc gcttgaggta cagcgaagtg tgagtaagta aaggttacat 4140  
cgttaggatc aagatccatt ttaacacaa ggccagttt gttcagcggc ttgtatgggc 4200  
cagttaaaga attagaaaca taaccaagca tgtaaatac gttagacgta atgccgtcaa 4260  
tcgtcatttt tgatccgcgg gagtcaagtga acaggtagca tttgccgttc attttaaaga 4320  
cgttcgcgcg ttcaatttca tctgttactg tgtagatgc aatcagcggg ttcactactt 4380  
ttttcagtg gtaatcatcg tttagctcaa tcataccgag agcgccgttt gctaactcag 4440  
ccgtgcgttt tttatcgctt tgcagaagtt tttgacttcc ttgacggaag aatgatgtgc 4500  
ttttgccata gtatgctttg ttaaataaag attcttcgcc ttggtagcca tcttcagttc 4560  
cagtgtttgc ttcaataact aagtatttgt ggcttttatc ttctacgtag tgaggatctc 4620  
tcagcgtatg gttgtgcct gagctgtagt tgccttcac gatgaactgc tgtacatttt 4680  
gatacgtttt tccgtcaccg tcaaagattg atttataatc ctctacaccg ttgatgttca 4740  
aagagctgtc tgatgctgat acgttaactt gtgcagttgt cagtgtttgt ttgccgtaat 4800  
gtttaccgga gaaatcagtg tagaataaac ggatttttcc gtcagatgta aatgtggctg 4860  
aacctgacca ttcttggtgt tggcttttta ggatagaatc atttgcatcg aatttgctgc 4920  
tgtctttaa gacgcggcca gcgtttttcc agctgtcaat agaagtttcg ccgacttttt 4980

gatagaacat gtaaactgat gtgtcatccg catttttagg atctccggct aatgcaaaga 5040  
cgatgtggta gccgtgatag tttgcgacag tgccgtcagc gttttgtaat ggccagctgt 5100  
cccaaacgtc caggcctttt gcagaagaga tatttttaaat tgtggacgaa tcaaattcag 5160  
aaacttgata tttttcattt ttttgctggt cagggatttg cagcatatca tggcgtgtaa 5220  
tatgggaaat gccgtatggt tccttatatg gcttttggtt cgtttctttc gcaaacgctt 5280  
gagttgcgcc tcctgccagc agtgccgtag taaagggttaa tactgttgct tgttttgcaa 5340  
actttttgat gttcatcggt catgtctcct tttttatgta ctgtgttagc ggtctgcttc 5400  
ttccagccct cctgtttgaa gatggcaagt tagttacgca caataaaaaa agacctaaaa 5460  
tatgtaaggg gtgacgcaa agtatacact ttgcccttta cacatttttag gtcttgccctg 5520  
ctttatcagt aacaaacccg cgcgatttac ttttcgacct cattctatta gactctcggt 5580  
tggattgcaa ctgggtctatt ttcctctttt gtttgataga aaatcataaa aggatttgca 5640  
gactacgggc ctaaagaact aaaaaatcta tctgtttctt ttcattctct gtatttttta 5700  
tagtttctgt tgcattgggca taaagttgcc tttttaatca caattcagaa aatatcataa 5760  
tatctcattt cactaaataa tagtgaacgg caggtatatg tgatgggtta aaaaggatcg 5820  
gcggccgctc gatttaaata tcgagaggcc tgacgtcggg 5860

<210> 75

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR primer

<400> 75

gagactcgag gtagacttta aacccatatt ag

32

<210> 76

<211> 29

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR primer

<400> 76  
gaagtctaga ttagcgaata gcgtcgtgg

29

<210> 77

<211> 6142

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 77  
tcgaggtaga ctttaaacc atattagagg gtgggggagc agctaagcca agagctaaga 60  
aaactagggg acatagtggg atcgacgctg ttcaataacg gcaacctaca gtaaaaatga 120  
ataaaattcc tcaaggtggc aatattcttc aattttccca taaaatacgc ccgtatgtct 180  
gcacaaccgc tacctgctgc gtatcagcgc acaatcaccg atgtcatttc catgccaca 240  
ccggggccagg ttccgttttc ttagagagttt atgccgccac gagatgaggc agcagaagag 300  
cgactctgga aagccgcca agcatttcac gacttaggag cctcttttgt ctccgttact 360  
tatgggtgcag gcggatctag ccgcgagcgc acaatgcgtg tcgcgcacaa gctttctcgt 420  
catccgttga ccacgctcgt tcattctcac cttgtggaac acaccaaga agaattagaa 480  
gaaattctgt gcacttatgc gtcccacggg ttgtctaact tacttgccct gcgaggcgat 540  
ccccctggca ctgaccgat ggctccgtgg gtccctaccg caggcggcct agattatgcc 600  
aaagatttga tcgacctcgt gcgcaagact gagcagacct cgcactttca ggtaggaatt 660  
gctagtttcc cagaagggca ctaccgagcg cctagcattg aggcggatac gcaatttaca 720  
ttggaaaagc tgcgagctgg cgcagagttt tcgattacc agatgttttt tgatgtcgat 780  
cactatttac gactgcgaga tcgcttggtt aaggcggatc ctgaacatgg atcaaagccg 840  
atcatccag gacttatgcc cattaccagc ttgaggtcgg ttcgtaggca gatggaatta 900  
gcaggtgcca ccttgccata ggcttttagaa aaacggcttc tcgacgcagc gcgcggcgat 960  
gaggaagctc atcgcggcga tattcgcaaa gtaggaatcg aagtcactac tgagatggca 1020  
cagcgtctta tttctgaagg gatcccagac atccatttca tgaccatgaa ttatgttcga 1080  
gcgacccaag aagtactcca taatctcggc atggcgcccg cgtggggaac acagcaaggc 1140  
cacgacgcta ttcgctaate tagaccggg atttaaatac ctagcgggct gctaaaggaa 1200  
gcggaacacg tagaaagcca gtccgcagaa acggtgctga ccccgatga atgtcagcta 1260

ctgggctatc tggacaaggg aaaacgcaag cgcaaagaga aagcaggtag cttgcagtgg 1320  
gcttacatgg cgatagctag actgggcggt tttatggaca gcaagcgaac cggaattgcc 1380  
agctggggcg cctcttggtta aggttgggaa gccctgcaaa gtaaactgga tggctttctt 1440  
gccgccaagg atctgatggc gcaggggatc aagatctgat caagagacag gatgaggatc 1500  
gtttcgcatg attgaacaag atggattgca cgcaggttct ccggccgctt ggggtggagag 1560  
gctattcggc tatgactggg cacaacagac aatcggtgc tctgatgccg ccgtgttccg 1620  
gctgtcagcg caggggcgcc cggttctttt tgtcaagacc gacctgtccg gtgccctgaa 1680  
tgaactgcag gacgaggcag cgcggctatc gtggctggcc acgacgggcg ttccttgccg 1740  
agctgtgctc gacgttgtca ctgaagcggg aagggactgg ctgctattgg gcgaagtgcc 1800  
ggggcaggat ctctgtcat ctcaccttgc tctgcccag aaagtatcca tcatggctga 1860  
tgcaatgcgg cggctgcata cgcttgatcc ggctacctgc ccattcgacc accaagcgaa 1920  
acatcgcatc gagcgagcac gtactcggat ggaagccggt cttgtcgatc aggatgatct 1980  
ggacgaagag catcaggggc tcgcgccagc cgaactgttc gccaggctca aggcgcgcat 2040  
gccccagggc gaggatctcg tcgtgacca tggcgatgcc tgcttgccga atatcatggt 2100  
ggaaaatggc cgcttttctg gattcatcga ctgtggccgg ctgggtgtgg cggaccgcta 2160  
tcaggacata gcgttggtta cccgtgatat tgctgaagag cttggcgggc aatgggctga 2220  
ccgcttcctc gtgctttacg gtatcgccgc tcccgattcg cagcgcatcg ccttctatcg 2280  
ccttcttgac gagttcttct gagcgggact ctggggttcg aaatgaccga ccaagcgacg 2340  
cccaacctgc catcacgaga ttctgattcc accgcgcct tctatgaaag gttgggcttc 2400  
ggaatcgttt tccgggacgc cggctggatg atcctccagc gcggggatct catgctggag 2460  
ttcttcgccc acgctagcgg cgcgcgggccc ggcccgggtg gaaataccgc acagatgcgt 2520  
aaggagaaaa taccgcatca ggcgctcttc cgcttcctcg ctactgact cgctgcgctc 2580  
ggtcgttcgg ctgcggcgag cggtatcagc tcaactcaaag gcggtataac ggttatccac 2640  
agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa 2700  
ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca 2760  
caaaaatcga cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc 2820  
gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc tctgttccg accctgccgc ttaccggata 2880  
cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta 2940  
tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca 3000  
gcccagccgc tgcgccttat ccgtaacta tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga 3060



cttatcgcca	ctggcagcag	ccactggtaa	caggattagc	agagcgaggt	atgtaggcgg	3120
tgctacagag	ttcttgaagt	ggtggcctaa	ctacggctac	actagaagga	cagtatttgg	3180
tatctgcgct	ctgctgaagc	cagttacctt	cggaaaaaga	gttggtagct	cttgatccgg	3240
caaacaaacc	accgctggta	gcggtggttt	ttttgtttgc	aagcagcaga	ttacgcgcag	3300
aaaaaaagga	tctcaagaag	atcctttgat	cttttctacg	gggtctgacg	ctcagtggaa	3360
cgaaaactca	cgtaagggga	ttttggtcat	gagattatca	aaaaggatct	tcacctagat	3420
ccttttaag	gccggccgcg	gccgcgcaaa	gtcccgcctt	gtgaaaattt	tcgtgccgcg	3480
tgattttccg	ccaaaaactt	taacgaacgt	tcgttataat	ggtgtcatga	ccttcacgac	3540
gaagtactaa	aattggcccc	aatcatcagc	tatggatctc	tctgatgtcg	cgctggagtc	3600
cgacgcgctc	gatgctgccg	tcgatttaaa	aacgggtgac	ggatttttcc	gagctctcga	3660
tacgacggac	gcgccagcat	cacgagactg	ggccagtgcc	gcgagcgacc	tagaaactct	3720
cgtggcggat	cttgaggagc	tggctgacga	gctgcgtgct	cggccagcgc	caggaggacg	3780
cacagtagtg	gaggatgcaa	tcagttgcgc	ctactgcggt	ggcctgatte	ctccccggcc	3840
tgacccgcga	ggacggcgcg	caaaatattg	ctcagatgcg	tgtcgtgccg	cagccagccg	3900
cgagcgcgcc	aacaaacgcc	acgccgagga	gctggaggcg	gctaggtcgc	aaatggcgct	3960
ggaagtgcgt	cccccgagcg	aaattttggc	catggtcgtc	acagagctgg	aagcggcagc	4020
gagaattatc	gcgatcgtgg	cggtgcccg	agggcatgaca	aacatcgtaa	atgccgcgtt	4080
tcgtgtgccg	tggccgcccc	ggacgtgtca	gcgccgccac	cacctgcacc	gaatcggcag	4140
cagcgtcgcg	cgtcgaaaaa	gcgcacaggg	ggcaagaagc	gataagctgc	acgaatacct	4200
gaaaaatgtt	gaacgccccg	tgagcggtaa	ctcacagggc	gtcggctaac	ccccagtcca	4260
aacctgggag	aaagcgctca	aaaatgactc	tagcggatct	acgagacatt	gacacaccgg	4320
cctggaaatt	ttccgctgat	ctgttcgaca	cccatcccga	gctcgcgctg	cgatcacgtg	4380
gctggacgag	cgaagaccgc	cgcgaattcc	tcgctcacct	gggcagagaa	aatttccagg	4440
gcagcaagac	ccgcgacttc	gccagcgctt	ggatcaaaga	cccggacacg	gagaaacaca	4500
gccgaagtta	taccgagttg	gttcaaaatc	gcttgcccgg	tgccagtatg	ttgctctgac	4560
gcacgcgcag	cacgcagccg	tgcttgtcct	ggacattgat	gtgccgagcc	accaggccgg	4620
cgggaaaatc	gagcacgtaa	accccagagt	ctacgcgatt	ttggagcgct	gggcacgcct	4680
ggaaaaagcg	ccagcttgga	tcggcgtgaa	tccactgagc	gggaaatgcc	agctcatctg	4740
gctcattgat	ccggtgtatg	ccgcagcagg	catgagcagc	ccgaatatgc	gcctgctggc	4800
tgcaacgacc	gaggaaatga	cccgcgtttt	cggcgctgac	caggcttttt	cacataggct	4860
gagccgtggc	cactgcactc	tccgacgac	ccagccgtac	cgctggcatg	cccagcacia	4920

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

tcgcgtggat cgcctagctg atcttatgga ggttgctcgc atgatctcag gcacagaaaa 4980  
acctaaaaaa cgctatgagc aggagttttc tagcggacgg gcacgtatcg aagcggcaag 5040  
aaaagccact gcggaagcaa aagcacttgc cacgcttgaa gcaagcctgc cgagcgccgc 5100  
tgaagcgtct ggagagctga tcgacggcgt ccgtgtcctc tggactgctc cagggcgtgc 5160  
cgcccgtgat gagacggctt ttcgccacgc tttgactgtg ggataccagt taaaagcggc 5220  
tggtgagcgc ctaaaagaca ccaaggggtca tcgagcctac gagcgtgcct acaccgtcgc 5280  
tcaggcggtc ggaggaggcc gtgagcctga tctgccgccc gactgtgacc gccagacgga 5340  
ttggccgcga cgtgtgcgcg gctacgtcgc taaaggccag ccagtcgtcc ctgctcgtca 5400  
gacagagacg cagagccagc cgaggcgaaa agctctggcc actatgggaa gacgtggcgg 5460  
taaaaaggcc gcagaacgct ggaaagaccc aaacagttag tacgcccagc cacagcgaga 5520  
aaaactagct aagtccagtc aacgacaagc taggaaagct aaaggaaatc gcttgaccat 5580  
tgcaggttgg tttatgactg ttgagggaga gactggctcg tggccgacaa tcaatgaagc 5640  
tatgtctgaa tttagcgtgt cacgtcagac cgtgaataga gcacttaagg tctgcgggca 5700  
ttgaacttcc acgaggacgc cgaaagcttc ccagtaaattg tgccatctcg taggcagaaa 5760  
acggttcccc cgtaggggtct ctctcttggc ctcttttcta ggtcgggctg attgctcttg 5820  
aagctctcta ggggggctca caccataggc agataacgtt cccaccggc tcgcctcgta 5880  
agcgcacaa gactgctccc aaagatcttc aaagccactg ccgcgactgc cttcgcgaag 5940  
ccttgccccg cggaaatttc ctccaccgag ttcgtgcaca cccctatgcc aagcttcttt 6000  
caccctaaat tcgagagatt ggattcttac cgtggaaatt cttcgcaaaa atcgtccccct 6060  
gatcgccctt gcgacgttgg cgtcgggtgcc gctgggttgcg cttggcttga ccgacttgat 6120  
cagcggccgc tcgatttaaa tc 6142

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**